

Volume 7, Issue 1, 2024

ПИЩЕВЫЕ СИСТЕМЫ  
ПИЩЕВЫЕ СИСТЕМЫ

---

---

ПИЩЕВЫЕ СИСТЕМЫ  
FOOD SYSTEMS

---

---

FOOD SYSTEMS  
FOOD SYSTEMS  
FOOD SYSTEMS  
FOOD SYSTEMS  
FOOD SYSTEMS  
FOOD SYSTEMS  
FOOD SYSTEMS  
FOOD SYSTEMS  
FOOD SYSTEMS  
FOOD SYSTEMS

ISSN 2618-9771 (Print)

ISSN 2618-7272 (On line)

<http://www.fsjour.com>



Национальный, рецензируемый журнал посвящен основным проблемам науки о пищевой промышленности. Основной миссией является: создание, агрегация, поддержка и распространение научного контента в области пищевой промышленности, объединение усилий исследователей научных центров, университетов, 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. Научная концепция издания предполагает публикацию новых знаний в области пищевых систем и научных основ ресурсосберегающих технологий глубокой переработки сельскохозяйственного сырья, прорывных технических решений для производства пищевых продуктов общего и специализированного назначения. В журнале публикуются научные и обзорные статьи, доклады, сообщения, рецензии, краткие научные сообщения (письма в редакцию), информационные публикации по направлениям: технология пищевых производств; процессы, оборудование и аппараты пищевых производств; гигиена питания; биотехнология; стандартизация, сертификация, качество и безопасность; экономика; автоматизация и информатизация технологических процессов. Подробная информация для авторов и читателей представлена на сайте: [www.fsjour.com](http://www.fsjour.com).

Министерство науки и высшего образования  
Российской Федерации

Федеральное государственное бюджетное научное  
учреждение «Федеральный научный центр  
пищевых систем им. В.М. Горбатова» РАН

**ПИЩЕВЫЕ СИСТЕМЫ**  
[www.fsjour.com](http://www.fsjour.com)

Учредитель, издатель и типография  
Федеральное государственное бюджетное  
научное учреждение «Федеральный научный  
центр пищевых систем им. В.М. Горбатова» РАН  
109316, Москва, Талалихина, 26

РЕДАКЦИЯ

Федеральное государственное бюджетное  
научное учреждение «Федеральный научный центр  
пищевых систем им. В.М. Горбатова» РАН  
109316, Москва, Талалихина, 26  
Тел.: +7-495-676-95-11, доб. 300  
e-mail: [a.zakharov@fncps.ru](mailto:a.zakharov@fncps.ru)

Журнал зарегистрирован в Роскомнадзоре

Регистрационные данные:

ПИ № ФС77-71610 от 13.11.2017

ЭЛ № ФС 77-72022 от 26.12.2017

Издается с 2018 года.

Материалы публикуются на условиях лицензии CC BY 4.0

Цена свободная.

Периодичность — 4 номера в год.

Подписано в печать 31.05.2024.

Дата выхода в свет 02.04.2024.

Тираж 300 экз. Заказ № 526.

© ФНЦПС, 2024

© Авторы, 2024

РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ

ГЛАВНЫЙ РЕДАКТОР:

**Кузнецова Оксана Александровна** — Доктор технических наук, Директор, Федеральный научный центр пищевых систем им. В. М. Горбатова РАН, Москва, Россия

ЗАМЕСТИТЕЛЬ ГЛАВНОГО РЕДАКТОРА:

**Лисицын Андрей Борисович** — Доктор технических наук, профессор, Академик РАН, Лауреат Государственной премии Российской Федерации в области науки и техники, Научный руководитель, Федеральный научный центр пищевых систем им. В. М. Горбатова РАН, Москва, Россия

ЗАМЕСТИТЕЛЬ ГЛАВНОГО РЕДАКТОРА:

**Семенова Анастасия Артуровна** — Доктор технических наук, профессор, Заместитель директора, Федеральный научный центр пищевых систем им. В. М. Горбатова РАН, Москва, Россия

НАУЧНЫЕ РЕДАКТОРЫ:

**Горлов Иван Федорович** — Доктор сельскохозяйственных наук, профессор, академик РАН, Научный руководитель, Поволжский научно-исследовательский институт производства и переработки мясомолочной продукции», Волгоград, Россия

**Замаратская Галия** — Кандидат технических наук, доцент, Научный работник, Шведский университет аграрных наук, г. Упсала, Швеция

**Настасиевич Иван** — Доктор, Адъюнкт-директор, Институт гигиены и технологии мяса, Белград, Сербия

**Такеда Широ** — Адъюнкт-профессор, Профессор лаборатории науки о пище, Институт ветеринарной медицины, Университет Азабу, Сагамихара, Япония

**Просекоев Александр Юрьевич** — Доктор технических наук, профессор, член-корреспондент РАН, Ректор, Кемеровский государственный университет, Кемерово, Россия

**Горбунова Наталия Анатольевна** — Кандидат технических наук, Ученый секретарь, Федеральный научный центр пищевых систем им. В. М. Горбатова РАН, Москва, Россия

**Arif Nur Muhammad Ansori** — PhD, Доктор ветеринарных наук, научный сотрудник, Университет Айрланга, Сурабая, Индонезия

ВЫПУСКАЮЩИЙ РЕДАКТОР:

**Захаров Александр Николаевич** — Кандидат технических наук, старший научный сотрудник, Заведующий редакционно-издательским отделом, Федеральный научный центр пищевых систем им. В. М. Горбатова, РАН, Москва, Россия

ЧЛЕНЫ РЕДАКЦИОННОЙ КОЛЛЕГИИ:

**Абрамова Любовь Сергеевна** — Доктор технических наук, профессор, Заместитель директора Департамента, Всероссийский научно-исследовательский институт рыбного хозяйства и океанографии, Москва, Россия

**Баженова Баяна Анатольевна** — Доктор технических наук, профессор, Профессор кафедры «Технология мясных и консервированных продуктов», Восточно-Сибирский университет технологии и управления», Улан-Удэ, Россия

**Галстян Арам Генрихович** — Доктор, технических наук, академик РАН, Директор, Всероссийский научно-исследовательский институт молочной промышленности РАН, Москва, Россия

**Донник Ирина Михайловна** — Доктор биологических наук, профессор, Академик РАН, Вице-президент РАН, Москва, Россия

**Евдокимов Иван Алексеевич** — доктор технических наук, профессор, Заведующий кафедрой «Технология молока и молочных продуктов» Северо-Кавказский федеральный университет, Ставрополь, Россия

**Иванкин Андрей Николаевич** — Доктор химических наук, профессор, Заведующий кафедрой «Химия», Мытищинский филиал МГТУ им. Н. Э. Баумана, Мытищи, Московская область, Россия

**Кочеткова Алла Алексеевна** — Доктор технических наук, профессор, Руководитель лаборатории пищевых биотехнологий и специализированных продуктов, Федеральный исследовательский центр питания, биотехнологии и безопасности пищи, Москва, Россия

**Машенцева Наталья Геннадиевна** — Доктор технических наук, доцент, профессор РАН, профессор, кафедра «Биотехнология и технология продуктов биоорганического синтеза» Московский государственный университет пищевых производств, Москва, Россия

**Мирошников Сергей Александрович** — Доктор биологических наук, профессор, член-корреспондент РАН, Ректор, Оренбургский государственный университет, Оренбург, Россия

**Римарева Любовь Вячеславовна** — Доктор технических наук, профессор, Академик РАН, Главный научный сотрудник, Всероссийский научно-исследовательский институт пищевой биотехнологии — филиал Федерального исследовательского центра питания, биотехнологии и безопасности пищи, Москва, Россия

**Петров Андрей Николаевич** — Доктор технических наук, профессор, Академик РАН, Директор, Всероссийский научно-исследовательский институт технологии консервирования — филиал Федерального научного центра пищевых систем им. В. М. Горбатова РАН, Видное, Московская область, Россия

**Ребезов Максим Борисович** — Доктор сельскохозяйственных наук, профессор, Главный научный сотрудник, Федеральный научный центр пищевых систем им. В. М. Горбатова РАН, Москва, Россия

**Чернуха Ирина Михайловна** — Доктор технических наук, профессор, Академик РАН, Заведующий отделом, Федеральный научный центр пищевых систем им. В. М. Горбатова РАН, Москва, Россия

16+

ISSN 2618-9771 (Print)  
ISSN 2618-7272 (Online)  
DOI-prefix: 10.21323/2618-9771

The national peer reviewed journal is dedicated to the main problems of food science. The main mission is to create, aggregate, support and distribute the scientific content in the field of the food industry, join the efforts of researchers from scientific centers and universities, bridge the gap between publications at the regional, national and federal levels. The journal serves to highlight topical problems in the food and related industries, promote new promising technologies among the wide audience of scientific and practical professionals, lecturers, students, postgraduate students and entrepreneurs. The scientific concept of the journal envisages publication of new knowledge in the field of food systems and scientific foundations of the resource saving technologies for deep processing of agricultural raw materials, breakthrough technical solutions for producing food of general and specialized purpose. The journal publishes scientific and review papers, reports, communications, critical reviews, short scientific communications (letters to the editorial office), information materials concerned with food technology, processes, equipment and apparatus for food production, nutritional hygiene, biotechnology, standardization, certification, quality and safety, economics, automation and informatization of technological processes. The detailed information is given on the site: [www.fsjour.com](http://www.fsjour.com).

**Minister of Science and Higher Education  
of the Russian Federation**

**V.M. Gorbатов Federal Research Center for Food  
Systems of Russian Academy of Sciences  
(Gorbатов Research Center for Food Systems)**

**FOOD SYSTEMS**  
**[www.fsjour.com](http://www.fsjour.com)**

**Founder, Publisher and Printing Office:  
Federal State Budgetary Scientific Institution  
“V.M. Gorbатов Federal Research Center  
for Food Systems of Russian Academy of Sciences”  
Talalikhina str. 26, Moscow, Russia, 109316**

**EDITORIAL OFFICE:**

Federal State Budgetary Scientific Institution  
“V.M. Gorbатов Federal Research Center  
for Food Systems of Russian Academy of Sciences”  
Talalikhina str. 26, Moscow, Russia, 109316  
Tel.: +7-495-676-95-11 extension 300  
e-mail: [a.zakharov@fncps.ru](mailto:a.zakharov@fncps.ru)

The Journal is registered in the Federal Service on Supervision  
in the sphere of communication industry, information  
technologies and public communications.

The certificate of registration is  
PI № FS 77 – 71610 of 13.11.2017  
EL № FS 77 – 72022 of 26.12.2017  
Founded in 2018.

This work is licensed under a  
Creative Commons Attribution 4.0 License  
Free price.

Frequency — 4 issues a year.  
Signed print 31.03.2024.  
Released from press 02.04.2024.  
Circulation — 300 copies. Order № 526.



ISSN 2618-9771 (Print)  
ISSN 2618-7272 (Online)  
DOI-prefix: 10.21323/2618-9771

© FNCPS, 2024  
© Authors, 2024

**EDITORIAL BOARD**

**EDITOR-IN-CHIEF:**

**Oxana A. Kuznetsova**, Doctor of technical sciences, Director, V. M. Gorbатов Federal Research Center for Food Systems of Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia

**DEPUTY EDITOR-IN-CHIEF:**

**Andrey B. Lisitsyn**, Doctor of technical sciences, Professor, Academician of RAS, Scientific supervisor, V. M. Gorbатов Federal Research Center for Food Systems of Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia

**DEPUTY EDITOR-IN-CHIEF:**

**Anastasiya A. Semenova**, Doctor of technical sciences, Professor, Deputy Director, V. M. Gorbатов Federal Research Center for Food Systems of Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia

**SCIENTIFIC EDITORS:**

**Ivan F. Gorlov**, Doctor of agricultural sciences, Professor, Academician of RAS, Scientific supervisor of Povolzhskiy Research Institute of Production and Processing of Meat and Dairy Products, Volgograd, Russia

**Galia Zamaratskaya**, Candidate of technical sciences, Docent, Research Worker, Swedish University of Agricultural Sciences, Uppsala, Sweden

**Ivan Nastasijevic**, Doctor, Associate Director, Institute of Meat Hygiene and Technology, Belgrad, Serbia

**Takeda Shiro**, Associate Professor, Laboratory of Food Science School of Veterinary Medicine, Azabu University, Sagamihara, Japan

**Aleksandr Yu. Prosekov**, Doctor of technical sciences, Professor, Corresponding member of RAS, Rector, Kemerovo State University, Kemerovo, Russia

**Natalia A. Gorbunova**, Candidate of technical sciences, Academic Secretary, V. M. Gorbатов Federal Research Center for Food Systems of Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia

**Arif Nur Muhammad Ansori**, Doctor, Doctor in Veterinary Sciences, Researcher, Universitas Airlangga, Surabaya, Indonesia

**PRODUCTION EDITOR:**

**Aleksandr N. Zakharov**, Candidate of technical sciences, Senior research worker, Head of the Department of Editorial and Publishing, V. M. Gorbатов Federal Research Center for Food Systems of Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia

**MEMBERS OF THE EDITORIAL BOARD:**

**Liubov S. Abramova**, Doctor of technical sciences, Professor, Deputy Director of the Department, Russian Federation Research Institute of Fishery and Oceanography, Moscow, Russia

**Baiana A. Bazhenova**, Doctor of technical sciences, Professor, Professor of the chair «Meat and canned product technology» of East Siberia State University of Technology and Management, Ulan-Ude, Russia

**Aram G. Galstyan**, Doctor of technical sciences, Academician of RAS, Director, All-Russian Dairy Research Institute, Moscow, Russia

**Irina M. Donnik**, Doctor of biological sciences, Professor, Academician of RAS, Vice president of RAS, Moscow, Russia

**Ivan A. Evdokimov**, Doctor of technical sciences, Professor, Head of the chair “Technology of milk and dairy products”, North-Caucasus Federal University, Stavropol, Russia

**Andrey N. Ivankin**, Doctor of Chemical Sciences, Professor, Head of the chair of Chemistry, Mytishchi branch of Bauman Moscow State Technical University, Mytishchi, Moscow region, Russia

**Alla A. Kochetkova**, Doctor of technical sciences, Professor, Head of the «Laboratory of food biotechnologies and specialized products», Federal Research Centre of nutrition, biotechnology and food safety, Moscow, Russia

**Natal'ya G. Mashentseva**, Doctor of technical sciences, Professor RAS, Professor, Chair of Biotechnology and Technology of Products of Bioorganic Synthesis, Moscow State University of Food Production, Moscow, Russia

**Sergey A. Miroshnikov**, Doctor of biological sciences, Professor, Corresponding member of RAS, Rector, Orenburg State University, Orenburg, Russia

**Liubov V. Rimareva**, Doctor of technical sciences, Professor, Academician of RAS, Chief Researcher, All-Russian Scientific Research Institute of Food Biotechnology — branch Federal Research Centre of nutrition, biotechnology and food safety, Moscow, Russia

**Andrey N. Petrov**, Doctor of technical sciences, Professor, Academician of RAS, Director, All-Russian Research Institute of Canning Technology — Branch of V. M. Gorbатов Federal Research Center for Food Systems of RAS, Vidnoe, Moscow region, Russia

**Maxim B. Rebezov**, Doctor of agricultural sciences, Professor, Chief Researcher, V. M. Gorbатов Federal Research Center for Food Systems of Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia

**Irina M. Chernukha**, Doctor of technical sciences, Professor, Academician of RAS, Head of the Department, V. M. Gorbатов Federal Research Center for Food Systems of Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia

# СОДЕРЖАНИЕ

Dongjie Luo, Marina A. Nikitina, Xinqing Xiao FLEXIBLE SENSORS FOR FOOD MONITORING. PART II: APPLICATIONS.....	4
Andrey V. Gutnov, Gennady S. Kachmazov, Petrakis N. Chalikidi, Albina Yu. Tuueva GAS CHROMATOGRAPHY-MASS SPECTROMETRY CHARACTERIZATION OF THE AROMA OF OSSETIAN CHEESES.....	15
Платова Р. А., Жиркова Е. В., Метленкин Д. А., Лысенкова А. А., Платов Ю. Т., Рассулов В. А. ПРОГНОЗИРОВАНИЕ ТЕХНОЛОГИЧЕСКИХ СВОЙСТВ ПШЕНИЧНОЙ МУКИ СОЧЕТАНИЕМ МЕТОДОВ UV-VIS-NIR СПЕКТРОСКОПИИ И МНОГОМЕРНОГО АНАЛИЗА.....	22
Кузнецова А. П., Аль-Шехадат Р. И. ПИЩЕВЫЕ ОТХОДЫ — СЫРЬЕ ДЛЯ ПОЛУЧЕНИЯ БИОРАЗЛАГАЕМЫХ ПОЛИГИДРОКСИАЛКАНОАТОВ: СОСТОЯНИЕ И ПЕРСПЕКТИВЫ.....	31
Зинина О. В., Меренкова С. П., Ребезов М. Б., Вишнякова Е. А. ИССЛЕДОВАНИЕ СВОЙСТВ БЕЛКОВЫХ ГИДРОЛИЗАТОВ, ПОЛУЧЕННЫХ ИЗ ЖЕЛУДКОВ ЦЫПЛЯТ-БРОЙЛЕРОВ, КАК ПОТЕНЦИАЛЬНОГО КОМПОНЕНТА БИОАКТИВНЫХ ПЛЕНОЧНЫХ ПОКРЫТИЙ.....	44
Tatiana N. Capcanari, Eugenia F. Covaliov, Cătălina Iu. Negoita HEMP ( <i>CANNABIS SATIVA L.</i> ) SEEDS NUTRITIONAL ASPECTS AND FOOD PRODUCTION PERSPECTIVES: A REVIEW.....	52
Бурак Л. Ч., Сапач А. Н. ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ТЕХНОЛОГИИ ОМИЧЕСКОГО НАГРЕВА В ПРОЦЕССЕ ПЕРЕРАБОТКИ ПЛОДОВ И ОВОЩЕЙ. ОБЗОР ПРЕДМЕТНОГО ПОЛЯ.....	59
Dalia E. Mohamed, Ahmed M. Alian, Reda M. Mohamed OPTIMIZATION OF PRODUCTION AND EVALUATION OF MICROBIAL KOJIC ACID OBTAINED FROM SUGARCANE MOLASSES (SCM) BY <i>ASPERGILLUS SP.</i> ....	71
Серба Е. М., Крючкова Е. Р., Римарева Л. В., Оверченко М. Б., Игнатова Н. И., Павленко С. В. ИССЛЕДОВАНИЕ ПРОЦЕССОВ МЕТАБОЛИЗМА СПИРТОВЫХ ДРОЖЖЕЙ ПРИ СБРАЖИВАНИИ ГРЕЧИШНО-КУКУРУЗНОГО СУСЛА.....	77
Wafaa K. Galal, Reham S. Abd El-Salam, Asmaa M. Marie HIGH NUTRITIONAL VALUE INSTANT FLAKES PRODUCED FROM VARIOUS CEREAL GRAINS.....	84
Altynai N. Saalieva, Aigul M. Usubalieva, Mukarama M. Musulmanova FEEDING RATION OF YAKS OF THE KYRGYZ POPULATION AND ITS INFLUENCE ON THE BIOCHEMICAL COMPOSITION OF MILK.....	91
Latifahtur Rahmah, Arif N. M. Ansori, Novi I. P. Sari INCREASING THE CONTENT OF FIBER AND MINERALS IN GNOCCHI WITH ADDED DRAGON FRUIT PEELS AS SUBSTITUTION OF INGREDIENT FOR IMPROVEMENT OF FOOD PRODUCT QUALITY AND HUMAN HEALTH.....	99
Мягконосов Д. С., Топникова Е. В., Абрамов Д. В., Кашникова О. Г. ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ТУРБИДИМЕТРИИ ДЛЯ ОЦЕНКИ ТЕПЛОВОЙ НАГРУЗКИ ПРИ ПАСТЕРИЗАЦИИ МОЛОКА.....	105
Алексеев Е. В., Каримова Н. Ю., Семенов Г. В., Краснова И. С., Бакуменко О. Е. ПОЛУЧЕНИЕ И БИОХИМИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА СУБЛИМИРОВАННОГО СОКА ЧЕРНИКИ ИЗ ФЕРМЕНТАТИВНО ОБРАБОТАННЫХ ЯГОД.....	114
Полищук Е. К., Котенкова Е. А. ПРОГНОЗИРОВАНИЕ ДЕЙСТВИЯ ЭНЗИМОВ ДЛЯ ИЗВЛЕЧЕНИЯ ВЕЩЕСТВ С АНТИМИКРОБНОЙ НАПРАВЛЕННОСТЬЮ ДЕЙСТВИЯ ИЗ ОРГАНИЗМОВ <i>SUS SCROFA</i> И <i>BOS TAURUS</i> .....	125
Abdalla S. M. Ammar, Mohamed G. El-Zeiny, Ahmad I. Al-Turki CHEMICAL AND MICROBIOLOGICAL ASSESSMENT OF HOUSE-FILTERED WATER PRODUCED BY HOUSEHOLD WATER FILTRATION SYSTEMS.....	137
Мордвинова В. А., Свириденко Г. М., Остроухова И. Л., Остроухов Д. В. ИЗУЧЕНИЕ ВОЗМОЖНОСТИ ВЫРАБОТКИ РАССОЛЬНЫХ СЫРОВ ИЗ ЗАМОРОЖЕННОГО ОВЕЧЬЕГО МОЛОКА.....	144
Eman A. Shehatta, Salah H. Abo-Raya, Ahmed A. Baioumy IMPACT OF DIFFERENT DRYING TREATMENTS ON THE BIOCHEMICAL AND ANTIOXIDANT ACTIVITY PROPERTIES OF EGYPTIAN RED BEETROOT.....	151
Пирогова Е. Н., Топникова Е. В., Данилова Е. С. ИЗУЧЕНИЕ ВОЗМОЖНОСТИ ПРИМЕНЕНИЯ МАСЛА, ВЫРАБОТАННОГО МЕТОДОМ ПРЕОБРАЗОВАНИЯ ВЫСОКОЖИРНЫХ СЛИВОК, ПРИ ИЗГОТОВЛЕНИИ СЛОЕНЫХ ИЗДЕЛИЙ.....	157
Sobhy M. Mohsen, Amal Ashraf, Sayeda S. Ahmed, Tarek G. Abdelmaksoud BISCUITS ENRICHED WITH THE EDIBLE POWDER OF ANGOUMOIS GRAIN MOTH ( <i>SITOTROGA CEREALELLA</i> ): OPTIMIZATION, CHARACTERIZATION AND CONSUMER PERCEPTION ASSESSMENT.....	165

DOI: <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2024-7-1-4-14>



Received 15.09.2023

Accepted in revised 05.02.2024

Accepted for publication 09.02.2024

© Luo D., Nikitina M. A., Xiao X., 2024

Available online at <https://www.fsjour.com/jour>

Review article

Open access

## FLEXIBLE SENSORS FOR FOOD MONITORING. PART II: APPLICATIONS

Dongjie Luo<sup>1</sup>, Marina A. Nikitina<sup>2</sup>, Xinqing Xiao<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup> College of Engineering, China Agricultural University, Beijing, P. R. China

<sup>2</sup> V.M. Gorbatov Federal Research Center for Foods Systems, Moscow, Russia

### KEY WORDS:

*Flexible sensor, food monitoring, intrinsically stretchable, mechanical conformability, conductive electrode, electrical property, sensing mechanism, transduction mechanism*

### ABSTRACT

Monitoring and maintaining food quality, safety, and authenticity are the most important concerns in the food industry. The cutting-edge flexible sensors for food monitoring precisely satisfy the needs of acquiring information on multiple parameters in a small space, they provide for the more reasonable layout, get data on the mechanical deformations, and can be conformably attached to arbitrarily curved surfaces. The flexible sensing materials with a large area of specific surface, that ensure high mobility and density of the media, feature dense active sites, outstanding adjustability and high processing capacities, such as two-dimensional carbon nanomaterials, conductive polymers, and nano-hybrid materials; those materials have further improved the sensitivity, stability and selectivity of the flexible sensors' perception. This article attempts to critically review the present state-of-arts developments in relation to the materials, manufacturing techniques and sensing mechanisms of the devices, as well as the applications of the electrically-transduced flexible sensors. Moreover, this article elaborates on the transduction mechanisms of the several typical transducers, with a focus on the physics behind, including the modulation of the doping level, Schottky barrier, and interfacial layer that typically cause changes in conductivity, functionality and permittivity. We also highlight the benefits and the technical challenges along with the appropriate solutions provided by the presented flexible sensors, and we also consider the potential strategies that allow overcoming limitations in power consumption, quantitatively assess the trade-offs in maintaining the quality and marketability, to optimize wireless communication and explore new sensing patterns.

Поступила 15.09.2023

Поступила после рецензирования 05.02.2024

Принята в печать 09.02.2024

© Луо Д., Никитина М. А., Сяо С., 2024

<https://www.fsjour.com/jour>

Обзорная статья

Open access

## ГИБКИЕ СЕНСОРЫ ДЛЯ МОНИТОРИНГА ПИЩЕВЫХ ПРОДУКТОВ: ЧАСТЬ II – ПРИМЕНЕНИЕ

Луо Д.<sup>1</sup>, Никитина М. А.<sup>2</sup>, Сяо Ц.<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup> Инженерный колледж, Китайский сельскохозяйственный университет, Пекин, КНР

<sup>2</sup> Федеральный научный центр пищевых систем им. В. М. Горбатова, Москва, Россия

### КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: АННОТАЦИЯ

*гибкий сенсор, мониторинг пищевых продуктов, эластичные по своей природе, механическое соответствие, проводящий электрод, электрическое свойства, сенсорный механизм, механизм преобразования*

Мониторинг и поддержание качества пищевых продуктов, их безопасность и аутентичность являются наиболее важными проблемами в производстве продуктов питания. Новейшие гибкие сенсоры для мониторинга качества пищевых продуктов идеально удовлетворяют потребность получения информации по многочисленным параметрам, при этом занимая очень малое пространство и обеспечивая возможность наиболее разумного размещения в производственном процессе. Эти сенсоры предоставляют данные о механических деформациях, и могут удобно размещаться на произвольно вогнутых поверхностях. Гибкие чувствительные материалы с большой площадью удельной поверхности, обеспечивающие высокую подвижность и портативность чувствительных элементов, характеризуются высокой плотностью действующих ячеек, превосходной настраиваемостью и отличными технологическими возможностями. В частности, двумерные углеродные наноматериалы, проводящие полимеры, и наномерные гибридные материалы еще больше повысили чувствительность гибких сенсоров, обеспечили стабильность считывания и селективность срабатывания. В данной статье авторы попытались дать критический обзор новейших разработок в сфере применяемых материалов, производственных технологий, разобрать принципы действия сенсорных механизмов этих устройств, а также дать обзор способам применения гибких сенсоров с электрическими преобразователями. Кроме того, в этой статье подробно рассматриваются механизмы преобразования, обуславливающие действие некоторых типовых преобразователей, с упором на физику, лежащую в основе таковых явлений, включая модуляцию уровня легирования материала, барьера Шоттки и межфазного слоя, которые обычно вызывают изменения проводимости, диэлектрической проницаемости и функциональности. Мы также подчеркиваем преимущества и технические проблемы, перечисляем соответствующие решения, обеспечиваемые гибкими сенсорами, а также рассматриваем потенциальные стратегии, позволяющие преодолеть ограничения в энергопотреблении, количественно оценить компромиссы в поддержании качества и конкурентоспособности продукта, оптимизировать беспроводную связь и исследовать новые модели считывания данных путем их сенсорного обнаружения.

### 1. Flexible sensors for food monitoring

The wide range of flexible sensing techniques, shapes and forms that have been applied to food monitoring will be considered here. In this section, we will systematically discuss three types of electrically-transduced analytical flexible sensors. These sensors include physical sensors, which are used for monitoring food texture, fruit ripeness, and temperature/

humidity variations in the warehouse environment during their storage; chemical sensors, which are used for monitoring pH, heavy metals content, marker gases of food spoilage (e. g., H<sub>2</sub>S, NH<sub>3</sub>, etc.), content of pesticide and residues of antibacterial substances; and biosensors which are used for monitoring bacteria, organophosphates, biogenic amines and pesticide residues. Flexible sensors based on simple colorimetric, fluores-

ДЛЯ ЦИТИРОВАНИЯ: Luo, D., Nikitina, M.A., Xiao, X. (2024). Flexible sensors for food monitoring. Part II: Applications. *Food Systems*, 7(1), 4–14. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2024-7-1-4-14>

FOR CITATION: Луо, Д., Никитина, М.А., Сяо, С. (2024). Гибкие сенсоры для мониторинга пищевых продуктов. Часть II – Применение. *Пищевые системы*, 7(1), 4–14. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2024-7-1-4-14>

cent, and paper chromatography surface enhancement of Raman scattering (SERS) have also been widely used in food quality, safety, and authenticity monitoring due to their simplicity and cost-effectiveness. However, they are not strictly considered as electrically-transduced sensors as defined previously. Therefore, we will not consider these sensors here.

### 1.1. Flexible physical sensors

#### 1.1.1. Temperature

Temperature is one of the important factors that affect the quality and safety of food. Temperature fluctuations at any point within the chain of the cold storage and distribution, like handling, loading, unloading, temperature cycles in the walk-in coolers, at the storage displays, and during its transportation home provide a strong impact on the shelf life of refrigerated food products [1,2,3,4,5]. Temperature plays a significant role in determining the rate of microbial activity development, chemical changes, and loss of nutritional value. Specifically, during refrigeration there is a potential risk for the staple food products, as the temperature between 4 and 12 °C is optimal for the growth of psychotropic bacteria and thermo-tolerant fungi. To ensure food safety and quality it is crucial to monitor and regulate temperature at every step of food production, storage, transport and distribution [6,7].

Escobedo et al. [8] designed a flexible printed temperature sensing cell. This sensor uses a commercially available PVC board as its flexible substrate; its conductive electrodes are made of silver conductive paste applied by stencil printing method. The temperature sensing material is a conductive polymer PEDOT: PSS. The sensing mechanism can be described as follows: change in environmental temperature affects as a physical perturbation on the sensing material, the sensing material acts as a resistor, and the mobility of the internal charge carriers in PEDOT: PSS polymer increases along with the increase of temperature, thus leading to an increase in its conductivity. The conductivity increase is transduced by the transducer into a resistance decrease, which in its turn raises circuit current and makes the LED indicator flash brighter. Being combined with another strain sensor integrated on the substrate card, the originally lit LED will turn off when the food packaging bag shows signs of Blown Pack Spoilage (BPS) due to food spoilage, which process proves that the food is no longer suitable for consumption. The temperature sensor based on PEDOT: PSS showed 70% change of resistance for a temperature variation of approximately 60 °C. Although the resistance-based sensing mechanism lacks a quantitative correlation between the sensor response and the precise level of spoilage, its threshold detection is quite sufficient for the intended application in the field of BPS detection.

#### 1.1.2. Humidity

The level of humidity plays a crucial role in various sectors of the food industry, ranging from dairy and meat to dehydrated products [9]. Humidity is a key indicator to monitor when testing food quality, as increased moisture provides a favorable environment for the growth of bacteria and fungi, thus becoming a safety issue for product consumption [10]. In addition to microbial growth, humidity can also cause spoilage of dehydrated products, result in product softening and moisture absorption, thus shortening the shelf life [11]. Therefore, monitoring and maintaining the due humidity levels in food packaging and storage rooms are crucial for preserving the quality and texture of food [12,13].

Molina et al. [14] created interdigitated electrodes (IDE)-based capacitive humidity sensor using flexible PET foils as substrate. Firstly, silver nanoparticles ink was inkjet-printed onto a PET substrate to patternize the planar IDE. Then, electrodeposition was performed on PET foil in a nickel sulfamate bath at 54 °C and current intensity of 20 mA/cm<sup>2</sup>, resulting in electrodeposition of layers ranging in thickness from several hundred nanometers to 15 μm. Cellulose acetate butyrate (CAB) was used as the sensing material and was inkjet-printed onto the IDE capacitor. Thus, the sensor creation was completed. It should be noted that pretreating PET substrates with oxygen plasma does not improve the adhesion of metal to the substrate; it does demonstrate any beneficial results in enhancing the smoothness of line edges. Additionally, when the printed electrodes come into direct contact with the environment, silver is highly likely to interact with moisture, oxidizing and/or releasing some organic residues that may have been extracted from the ink. Passivation of the inkjet-printed silver electrodes with nickel can improve the stability of electroplated sensors. The sensing mechanism of this capacitive humidity sensor can be summarized as follows: the water vapor, which is the target gas, is absorbed by the polymeric sensing layer. Consequently, the sensing layer swells and increases its thickness, which alters its dielectric constant  $\epsilon_s$ , and modifies the value of C. When the thickness of the sensing layer is increased (up to the saturation value of  $r_s, I \sim 0.5$ ), it can absorb greater number of molecules in the fixed concentration of ambient gas. This causes larger shifts

of C and leads to higher sensitivity but can also lead to unfavorable factors such as long-term response and hysteresis of the sensor. The sensitivity of this device is  $2.36 \pm 0.08$  fF per 1% R. H. It is worth noting that the technique used to fabricate the sensing layer, electrodeposition on inkjet-printed patterns, is a smart technical solution for the simultaneous production of temperature and gas sensing platforms.

#### 1.1.3. Pressure

The growing competition in both domestic and international fruit markets has created a demand for better techniques to evaluate ripeness of fruit. This is necessary to minimize potential losses for the growers and the packers, as well as to prevent spoilage of fruit supplied to the consumers. While determining the optimal harvest time and precise stage of ripeness are crucial in evaluating the quality of many fruit varieties, there is still a necessity to find the appropriate techniques to monitor the ripeness degree of numerous varieties [15,16]. Flexible tactile sensing technology can serve as useful approach in agriculture to evaluate the inherent quality of fruit and supplement the information obtained from visual inspection [1,17]. However, tactile sensors that rely on a single mechanism typically cannot comprehensively assess fruit quality in both qualitative and quantitative terms, which may not provide sufficient guidance for terms of logistics and shelf life longevity [18]. Thus, highly sensitive flexible pressure sensors which use multiple mechanisms are greatly needed [19].

Xia et al. [18] designed a dual-mechanism pressure sensor (DMPS) that is made up of Ag nanowire/PDMS electrodes and ZnO nanoparticle-based membranes that are able to sense pressure. The sensor features sandwich-like structure and is very flexible because of chemical bonding. It can detect both high-frequency dynamic pressure and static load at the same time by using both piezoelectric and piezocapacitive effects. It provides certain benefits in comparison with the traditional piezoelectric sensors, which cannot continuously detect static pressure. Firstly, the Ag-NW ethanol dispersion was drop-applied onto PDMS flexible substrate to create a flexible AgNW/PDMS electrode through solvent evaporation and annealing. Second, PDMS mixture solution containing Zinc oxide powder was spin-applied onto a glass substrate and allowed to cure before its peeling off from the glass substrate. Third, both sides of the PDMS-ZnO film were plasma-treated with O<sub>2</sub> and amine-modified to prepare for the next step of assembly. Finally, two flexible electrodes and piezoelectric film were assembled into a sandwich structure at 60 °C. Due to the strong covalent bond between the -OH modified PDMS and APTES modified PZO, the multilayered structure layers adhere tightly to each other. The sensing mechanisms of this dual mechanism pressure sensor can be described as follows: (1) In piezoelectric mode, the piezoelectric potential that appears between the electrodes is created by deformation of the crystalline material and internal dipole polarization initiated by mechanical stimulation. (2) In piezocapacitive mode the addition of nanofillers into the polymer creates bulges on the membrane surface with empty spaces between each one. When the membrane is compressed, these spaces are filled by neighboring composites, thus causing the increase of the comprehensive dielectric constant of the dielectric layer. It is worth to underline that: (a) In piezoelectric mode, after optimizing the content of ZnO nanoparticles, this pressure sensor shows the improved electrical output properties, resulting in an open-circuit voltage of approximately 2 volts when subjected to an external force of 20 newtons. And it is basically able to ensure stable functioning under 5,000 load cycles in this mode. (b) In piezocapacitive mode, the sensor's pressure sensitivity varies within 0–16 kPa and 16–100 kPa, which is equal to are 17.82 and 5.75 MPa-1 respectively. This is approximately double the sensitivity levels observed in a sensor produced with flat copper foil electrodes under similar conditions. Moreover, the output of the sensor's capacity remains stable even after being subjected to 5,000 load cycles.

### 1.2. Flexible chemical sensors

#### 1.2.1. pH

During the food spoilage processes the original chemical compounds like glucose, lactic acid and certain amino acids are catabolized by microbes or microflora [20]. The pH of the chemical environment of food can be altered by acidic or basic metabolites produced during microbial spoilage [21]. These markers, such as liquids (e. g., fatty acids, lactic acid, etc.) and gases (e. g., amines, carbon dioxide, etc.), can form acidic or basic substances when dissolved [22]. Therefore, monitoring pH profiles in food provides a tool for food quality measurement [23].

Xiao and his team [24] developed a flexible battery-free wireless electronic system (FBES) equipped with electrochemical pH sensor. Double-electrode pattern is implemented on a thin commercial PET/ITO film (~125 μm) using a carbon dioxide laser for its scribing. Then, Ag/Cl is

applied to the reference electrode through a drop-coating process to finalize the production of a flexible electrode. However, the first issue was the inflexibility of ITO film, which makes it unsuitable for its application in flexible devices because of the oxide material brittleness [25,26,27]. However, growing ITO into nano-branched structures has solved this issue [28]. At second, the sensing mechanism can be analyzed as follows: this two-electrode pH sensor can utilize the activity of target ions ( $H^+$ ,  $OH^-$ ) as an input signal, and the potential as an output signal, for effective conversion of ions to electrons [29]. According to Nernst equation, when the activity of measured ions increases by 10 times, the potential/electromotive force (EMF) increases by  $59.2 \text{ mV}/z_i$  ( $z_i$  is the ionic charge of the ion "i") [30]. The activity of ions has a close correlation with the concentration of hydrogen ions or hydroxide ions. Ag/Cl electrode has made major contribution to the stable potential difference between the working electrode and the reference electrode: ion-to-electron transduction proceeds through the reversible redox reaction between  $AgCl(s) + e^- \rightleftharpoons Ag(s) + Cl^-(aq)$ , which provides stable interfacial potential between the AgCl/Ag electrode and the inner filling solution [30]. It is worth emphasizing that the analysis is run under thermodynamic equilibrium conditions, which means that the system can be observed without applying the potential that can induce chemical reactions, and thus can detect chemical substances without involving any redox processes [31].

### 1.2.2. Gases

**Oxygen ( $O_2$ ):** Oxygen is essential for life but also can spoil food through its oxidation (lipid and ascorbic acid), enzymatic reactions (accelerated ripening, darkening or browning), and microbial growth [32,33]. Thus, it is crucial to keep track of the levels and variations of oxygen within the food packaging to ensure food quality and safety.

Seoyeon et al. [34] designed a cut-the-edge self-powered flexible oxygen gas sensor for the smart food packaging. This self-powered sensor is based on metal-air batteries designed to generate power by oxidizing metals with the air oxygen. This flexible oxygen sensor was fabricated through a layer-by-layer process. Firstly, an adhesive gel electrolyte (thickness 600  $\mu\text{m}$ ) was attached to a zinc sheet (anodic adhesion, thickness 100  $\mu\text{m}$ ), followed by coating with Ag-OPP (oriented polypropylene) film on the electrolyte. Silver, serving as catalyst (thickness 0.1  $\mu\text{m}$ ), was deposited onto the OPP film (25  $\mu\text{m}$ ). Second, the three layers were laminated with an automatic adhesion roller. Compared to gel electrolyte, both the Ag-OPP film and zinc sheet extended 1cm as conductive electrodes in the opposite direction. The sensing mechanism of this self-powered flexible potentiometric/voltammetric/ampereometric sensor is based on a metal-air battery capable to generate energy sufficient for monitoring analytes through electrochemical reactions. They are composed of a metal anode (Zn), an air cathode ( $O_2$ ), and an electrolyte. The pure metal zinc is oxidized into  $Zn^{2+}$  at the anode by providing electrons, which are then captured by oxygen to diffuse through a gas diffusion layer from the air at the cathode. The slow redox reaction at the cathode is catalyzed with the help of Ag as an electrocatalyst. The electrochemical reactions of zinc-air battery in acidic or neutral electrolytes are described by the following equations: Zinc anode:  $Zn \rightarrow Zn^{2+} + 2e^-$  ( $E^\circ = -0.762 \text{ V}$ ), air cathode:  $1/2O_2 + 2H^+ + 2e^- \rightarrow H_2O$  ( $E^\circ = +1.229 \text{ V}$ ). Under potentiometric mode, according to Nernst equation, the open circuit voltage (OCV) between the two electrodes is proportional to the logarithm of the analyte concentration. Under voltammetric/ampereometric mode, when the two electrodes are connected to the load resistor to form a closed circuit, the flow of electrons from the anode to the cathode gets proportional to the analyte concentration. Moreover, according to Ohm's law, the voltage of the closed circuit is proportional to the current. In addition, it should also be emphasized that (1) a sensitivity of 18  $\text{mV}/\% O_2$  and good linearity ( $R^2 = 0.999$ ) were achieved within the range of 0–21%  $O_2$  gas, (2) the silver catalyst was deposited on a thin and transparent OPP film in the gas diffusion layer because it is oxygen-permeable. Silver is not only non-toxic but also has antibacterial activity. (3) The gel electrolyte is slightly acidic, so it is more environmentally friendly and less sensitive to  $CO_2$  in comparison with the strongly alkaline electrolyte widely used in metal-air batteries (4). In the bending test the initial OCV of the sensor has hardly decreased after 250 bending cycles ( $R_c = 3.3 \text{ mm}$ ).

**Carbon dioxide ( $CO_2$ ):** carbon dioxide can inhibit the growth of bacteria and fungi, while also lowering the pH level in the food environment [11]. Carbon dioxide inhibits the growth of gram-negative aerobic bacteria, such as *Pseudomonas* spp, which can produce bad odors and harmful chemicals such as sulfides and acids during their growth and metabolism in food, thus leading to food spoilage [35]. The antimicrobial effect of  $CO_2$  is attributed to its ability to create an anaerobic environment that prevents enzymatic decarboxylation [11]. Accumulation of  $CO_2$  may also disrupt the permeability of certain microbial membranes [36]. Any change

in gas concentration/composition can indicate the deterioration of food quality and signal the presence of microbial activity undesirable for the consumers [37]. Monitoring and controlling the amount of  $CO_2$  is, therefore, crucial for extending the shelf life of food [38].

Shahrbabaki et al. [39] developed a flexible  $CO_2$  sensor through depositing poly(N-[3-(dimethylamino)propyl]-methacrylamide-co-2-N-morpholinoethyl methacrylate) (p(D-co-M)) on planar double-parallel-lines CB electrode which was stenciled on a PET substrate. The less basic monomer 2-N-morpholinoethyl methacrylate (MEMA, pKaH of homopolymer = 4.9) [40,41] provides more free amine sites for p(D-co-M), especially at lower pH. This solves the issue of non-linear and irreversible response by allowing for the adjustment of the basic parameters of pDMAPMAM [42]. The sensing mechanism of this chemiresistor can be described as follows: (1) In transduction, the  $CO_2$ -responsive amine side groups of p(D-co-M) can alternate between the neutral and charged states depending on presence or absence of  $CO_2$  [43]. This switchable behavior in the charge state of amine side groups is translated to the corresponding changes in the electrical resistance of the polymer. (2) For reverse procedure the polymer chains of p(D-co-M) contain primary, secondary and tertiary amines, which are the organic bases that can react with carbonic acid generated by  $CO_2$  in the presence of water or wet organic solvents. In the presence of  $CO_2$ , the functional groups in the polymer chains change from neutral to charged state (or vice versa) as this equation:  $B + CO_2 + H_2O \rightleftharpoons [BH^+][HCO_3^-]$ . For reversible  $CO_2$  sensors, switchable  $CO_2$ -responsiveness is required which involves hydrogen protonation and deprotonation. The deprotonation process is often referred to as good reversibility. Higher pKaH values indicate stronger bases and produce higher degrees of protonation (DOP). However, the deprotonation process gets more complicated. Higher pKaH values make charged bases more difficult to deprotonate [44]. The pKaH of tertiary amines is approximately 6.0–7.0 [45,46], which means that they are mild bases and are expected to have good conversion properties, i. e., they are easy to protonate and have good reversibility. Primary and secondary amines possess N-H bonds that react with  $CO_2$  in water, thus forming carbamate salt [47]. Carbamate formation is not desired for sensing applications because it is not reversible unless exposed to high temperatures, which requires additional heating, expenses and time [43]. Therefore, the tertiary amine in the polymer chains plays a significant role in improving the reversibility and reducing operating temperature of the sensor.

**Ammonia ( $NH_3$ ):** the spoilage of high-protein food, like fish and shrimp, releases nitrogen-containing compounds, which are the source of the unpleasant odor produced during meat decomposition [48,49,50]. Volatile amines such as ammonia, dimethylamine, and trimethylamine are produced by amino acids decomposition and activity of *Pseudomonas* bacteria, usually referred to as total volatile basic nitrogen (TVBN) [51]. Ammonia, as the main component of TVBN, may serve as potential indicator of protein-rich food spoilage [52]. Real-time measurement of ammonia emitted from food has great significance for evaluating the food quality, reducing food waste, controlling the occurrence of foodborne diseases, and studying the relationship between ammonia generation and food quality [48].

Tang et al. [53] designed a  $NH_3$  sensor based on flexible PEDOT: PSS nanowire. The  $NH_3$  sensing system that was integrated showed improved performance, with the ability to detect as low as 100 parts per billion (ppb) of  $NH_3$ , along with high selectivity and reproducibility. Additionally, the flexible nanowire sensor consumed very little power, as low as 3  $\mu\text{W}$ . Firstly, a soft nanomold containing well-defined parallel nanogrooves was prepared by thermal nanoimprint lithography (NIL) on a flat PDMS substrate. Second, after soft bonding to a plasma-treated PET substrate, the nanogrooves turned into parallel nanochannels. Third, a few drops of aqueous solution containing functional materials PEDOT: PSS were applied at the edges of the nanochannels to shape the sensitive PEDOT: PSS nanowires. Finally, the Au interdigital electrodes (IDE,  $N = 9$ , length = 8mm, width = 300  $\mu\text{m}$ ) were deposited by vacuum evaporation through a designed shadow mask. The sensing mechanism of this flexible  $NH_3$  chemiresistor can be explained as follows: during the interaction between the analyte and the sensing material, the distance between the target molecule and the sensing material becomes close enough to allow electron transfer between them [54]. The analyte  $NH_3$  acts as an electron donor, increasing or compensating for the doped charge density. This process is commonly referred to as secondary doping of the sensing material [31]. The modification of the doping density thus changes the state density in the barrier area and consequently alters the conductivity of the sensing material PEDOT: PSS. By modulating the doping level, the change in conductivity of the sensor is closely related to the rate of the analyte molecule occupancy on the sensing material surface. Specifically, when being in contact with  $NH_3$ , the holes in the valence band of the con-



ducting polymer PEDOT: PSS are depleted by the electron-donating gas  $\text{NH}_3$ , leading to a significant decrease in conductivity and a macroscopic increase in its resistance. This mechanism is described by the binding site hypothesis, where the atoms on the surface of sensing material can serve as binding sites for molecule adsorption [53,55]. It is worth to mark that even after 1,200 bending cycles this flexible device still demonstrates excellent mechanical flexibility and durability with no significant decrease in performance. And in a dynamic response test to VOCs containing  $\text{NH}_3$ , ethanol, IPA, p-xylene, acetone, n-heptane, and n-hexane, the flexible chemiresistive sensor showed a preferential response to  $\text{NH}_3$  (with sensitivity up to 0.25), while the response to other VOCs can be neglected (with a maximum sensitivity of 0.065) [56].

Ethylene ( $\text{C}_2\text{H}_4$ ): ethylene is the colorless and odorless plant hormone that plays a crucial part in fruit ripening, especially in climacteric fruits [57]. The sharp increase in climacteric ethylene production at the ripening onset is considered as controlling the beginning of changes in color, aromas, texture, flavor, and other biochemical and physiological parameter [58]. Generally, climacteric fruits are harvested before the climacteric stage, and the ripening process is managed during transportation and storage by controlling the level of ethylene to maintain optimal freshness when displayed for sale [59]. Meanwhile, controlled atmosphere was developed to allow longer storage periods and, subsequently, to provide a wide variety of fruits to the consumers over the entire year. Therefore, it is extremely important to monitor and control the ethylene emission in growth chambers, greenhouses and storage facilities to optimize fruit freshness [60].

Yan et al. [57] developed a wearable paper-based chemoresistive ethylene gas sensor which consists of a paper-based substrate, gold interdigitated electrodes (IDE), sensing layer, and encapsulation layer. Firstly, laser direct writing was carried out to pattern the interdigitated electrodes (IDE) on gold foil which was glued to high-temperature resistant paper using polyvinyl alcohol glue based on local heating with steam iron. Second, a liquid polyimide solution (50 wt%) was coated on both sides of the interdigitated electrodes as an encapsulation layer, which only left the sensing area exposed to the target ethylene gas. Finally, modify the sensing area of IDE through pipetting 10  $\mu\text{L}$  of the SWCNT-PdNP-polystyrene microsphere (SPPM) dispersion and drying at room temperature. Sensing material SPPM contains the following characteristics: (1) The unique properties of CNTs (i. e., high carrier mobility, excellent physical properties, ease of modification, sizeable surface-area-to-volume ratio, etc.) enable the sensor to have a fast response and substantially higher sensitivity at room temperature. More detailed discussion on the electrical, physical, mechanical, and chemical properties of SWCNTs can be found in section 2.3.1 'Single-Walled Carbon Nanotubes' part of the Carbon Nanomaterials chapter. (2) As a potential  $\text{C}_2\text{H}_4$  acceptor and catalyst, PdNPs are expected to achieve a high and rapid response and a low detection limit [61], wherein PdNPs can both provide a larger surface area and catalyze the cleavage of carbon-carbon double bonds [62]. Hydrocarbons can have a good affinity for transition metals, which are located in the middle of the periodic table, have partially filled d-orbitals that can interact with hydrocarbons in various ways. (3) Polystyrene microspheres further improved the sensitivity by increasing the surface area of the SWCNT network, upgrading the charge distribution and transfer in the SPPM for ethylene gas sensing, and possibly enhancing the local concentration of ethylene in the device as it partitions into the polystyrene beads [63,64]. The sensing mechanism can be analyzed as follows: (1) The work function of Pd (5.12 eV) is higher than that of SWCNT (4.7-4.9 eV) [65], forming a Schottky junction between them, which causes electrons to flow from SWCNT to PdNP. Oxygen molecules quickly adsorb onto the surface of the SPPM and, with the help of the Schottky junction, the adsorbed oxygen molecules combine with the electrons provided by SWCNT to form adsorbed oxygen  $\text{O}_2^-$  as shown in the equation:  $\text{O}_2 + e^- \rightarrow \text{O}_2^-$  (a). This helps to create an electron depletion layer around the SWCNT [66], leading to an increase in resistance [67,68,69]. (2) The adsorbed oxygen  $\text{O}_2^-$  reacts with the target ethylene molecules as shown in the equation:  $2\text{C}_2\text{H}_4 + \text{O}_2^- \rightarrow 2\text{C}_2\text{H}_4\text{O} + e^-$  (b), which releases electrons. This weakens the electron depletion layer, leading to a decrease in resistance. (3) The intermediate product  $\text{C}_2\text{H}_4\text{O}$  continues to react with the adsorbed oxygen  $\text{O}_2^-$  as shown in the equation:  $2\text{C}_2\text{H}_4 + 5\text{O}_2^- \rightarrow 4\text{CO}_2 + 4\text{H}_2\text{O} + 5e^-$  (c). Reaction (c) releases more electrons, further reducing the resistance of the SPPM. Finally, it should be emphasized that the concentration of  $\text{C}_2\text{H}_4$  can be detected down to 100 ppb using the SPPMs/FWPCS at 25 °C.

### 1.2.3. Pesticides

Pesticides are extensively used in modern agriculture in order to meet the global demand for food [70,71]. As the pesticides (organophosphorus, organochlorine, carbamate, dithiocarbamate, etc.) are carcinogenic,

they are harmful for humans when being included into the food chain [72] which resulted to the requirement to monitor the availability of pesticide remnants in soil, their effluents from wastewater, surface water, primary sources of drinking water, and food items [73,74]. Analytical techniques such as gas chromatography (GC) [75] and high performance liquid chromatography (HPLC) [72] demand expensive equipment and time-consuming processing by the skilled personnel. On the one hand, enzyme-based sensors are limited in terms of non-specific interactions with interferents, storage and long-term stability [71,76]. On the other hand, immunosensors face issues concerning storage, stability, and high cost when it comes to the use of antibodies [77].

Zhu Xiaoyu and colleagues [78] created a sensor for detecting very small amounts of the plant growth regulator  $\alpha$ -naphthalene acetic acid (NAA). This sensor was made of combination of two-dimensional phosphorene (BP) and graphene-like titanium carbide MXene ( $\text{Ti}_3\text{C}_2$ -MXene) materials (MXene, 2D material, it can be synthesized by etching "A" from MAX phase ("M" represents transition metals, "A" represents group IIIA/IVA elements and "X" represents C and/or N elements)), which were applied onto a flexible substrate made of laser-induced porous graphene (LIPG). Using ultrasonic assistance in an organic solvent, a stable nanohybrid of BP- $\text{Ti}_3\text{C}_2$ -MXene was created by liquid-phase exfoliation of black phosphorus with cuprous chloride and  $\text{Ti}_3\text{C}_2$ -MXene, which had been obtained by etching the aluminum layers from  $\text{Ti}_3\text{AlC}_2$ . MXene features distinct thin-layered nanostructure that offers abundant room for accommodating the other functionalized nanomaterials. Nonetheless, the efficiency of MXene can be deteriorated when its nano-layers stack too much, leading to damaging of the active surface area [79]. In order to resolve this issue, a noncovalent nanohybrid of BP and MXene has been proposed as a solution to prevent the aggregation of either material while also leveraging the benefits of both substances [80]. This electrochemical sensor operates on the following sensing mechanism: The working electrode, which has been modified with  $\text{Ti}_3\text{C}_2$ -MXene/BP biomimetic enzymes, demonstrates oxidase-like properties (acting as a nanozyme) in amperometric mode when the zymolyte NAA is electrocatalytically oxidized. As a result of electron transfer reactions, detectable alterations in current take place. As the magnitude of the current generated is directly proportional to the quantity of NAA molecules present in the solution, the concentration of the molecules can be tracked in a time-dependent manner [81]. This sensor exhibits an extremely low detection limit (LOD) of 1.6 nM and an expansive linear range within 0.02–40  $\mu\text{M}$ .

### 1.2.4. Antibacterial substances

Sulfonamides (SAs) are the derivatives of sulfanilic acid (p-aminobenzenesulfonic acid) and are included into the list of the most widely used antibiotics. Residues of these antibiotics in food pose a serious health hazard [82]. The antibacterial mechanisms of SAs can be described as: The sulfanilamide part is structurally similar to p-aminobenzoic acid (PABA), which is involved in the biosynthesis of dihydrofolic and folic acids, as well as other substances utilized by microorganisms. SAs act as competitive inhibitors of the enzyme dihydropteroate synthase, inhibiting the catalytic conversion of p-aminobenzoic acid (PABA) to dihydropteroic acid, which is a precursor compound of dihydrofolic acid. Dihydrofolic acid is further reduced down to tetrahydrofolic acid by dihydrofolate reductase. Tetrahydrofolic acid participates in the synthesis of nucleic acids. The lack of nucleic acid synthesis would result in an inability to produce the associated proteins. Therefore, SAs competitively bind with the enzyme dihydropteroate synthase, inhibiting the synthesis of dihydropteroic acid, which in turn inhibits the synthesis of nucleic acids and ultimately protein synthesis, leading to the antibacterial effect [83,84,85]. Sulfamethoxazole (SMZ) is an important antibiotic obtained from the sulfonamide class that is used to prevent and treat infections. However, it is considered a persistent pollutant that can have significant toxicological effects on both the food of animal-origin and aquatic environments [86,87]. Exposure to low levels of antibiotics over a long period of time can increase the risk of development of antibiotic resistance and even thyroid cancer in humans [88,89]. Therefore, it is crucial to develop efficient and convenient methods to detect residual antibiotics in the food and water [90].

Zeng et al. [91] developed the portable electrochemical sensor for fast detection of sulfonamides (SAs). At first, the original laser-induced porous graphene (LIPG) with an ordered-porous flake foam-like structure was prepared and applied on a polyimide (PI) film according to the design drawing. As the laser stencil scribing was carried out in air, the local availability of oxygen and moisture could cause the burn-off of some carbon during graphitization, thus releasing CO and  $\text{CO}_2$  gases and leading to porosity [92]. At second, the working electrode was electrochemically modified with two-dimensional hexagonal boron nitride (2D h-BN), and

then Ag/Cl ink was drop-coated on the reference electrode. The sensing mechanism can be described as follows: this voltammetric sensor produces a measurable response by the variation of the current at different potentials [93]. The surface of the working electrode was functionalized with an electroactive layer of hexagonal boron nitride (h-BN) to induce selectivity towards the targeted analytes. The applied potential is the driving force for electron transfer reactions, which generate measurable current changes. As the magnitude of the measured current is directly proportional to the number of oxidizing/reducing molecules in the solution, the relevant concentrations of the molecules can be monitored on physiological timelines [81]. It is worth emphasizing that this voltammetry-based sensor displayed a good linear range from 0.5 to 362.5  $\mu\text{M}$ , a low limit of detection was 0.011  $\mu\text{M}$ , and satisfactory recoveries of SMZ in the range of 97.5%–101.3% in milk and lake water. It also exhibits excellent repeatability with a 4.01% RSD value for the repeatable peak currents under the 20<sup>th</sup> successive measurement, and features good reproducibility with a 4.65% RSD value. Moreover, after 50 bending cycles, the sensor still demonstrated good mechanical stability. This sensor was also applied for the detection of four other SAs, including sulfanilamide, sulfapyridine, sulfadimidine, sulfisoxazole.

### 1.3. Flexible biosensors

#### 1.3.1. Foodborne pathogens

Food has been considered as a potential carrier for intentional contamination that could result in human or animal illnesses and deaths, as well as economic losses [94]. *Salmonella enterica*, which is found in raw/undercooked eggs, poultry meat, etc., is one of the most prominent foodborne pathogens [95,96,97,98,99]. Therefore, monitoring of *Salmonella enterica* in food is the solution for prevention and recognition of the issues related to health and food safety.

Soares et al. [100] designed a LIG-based impedimetric immunosensor which functions with polyclonal anti-salmonella antibody to detect *Salmonella enterica*. The LIG electrodes were produced by laser induction on the polyimide (PI) film in ambient conditions. And then the working area was separated from the connector ends of the working electrode with a passivation layer (fast-drying varnish) to cover the non-active areas of the electrodes. During the process of electrochemical sensing, passivation was run to ensure that the working electrode retained a consistent surface area exposed to the redox solution [101]. The antibody functionalization of LIG electrode can be described as follows: firstly, 1-ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl) carbodiimide (EDC) and N-hydroxysuccinimide (NHS) are fixed on the surface of the LIG working electrode in a ratio 3:1. Then, the polyclonal anti-salmonella antibody is incubated at 4 °C for a certain period of time, and the biofunctionalization of the sensing material is completed through carbodiimide cross-linking chemical reaction with EDC/NHS. The sensing mechanism of this impedimetric immunosensor can be described as follows: the change in charge transfer resistance (Rct) on the electrode surface is directly proportional to the adhesion of bacterial cells to the biofunctionalized area of the electrode [102]. This “bio-barrier” hinders the entry of electrolytes, acting as an electron-blocking agent, thus increasing the Rct [103,104,105]. Furthermore, the presence of adhered bacterial cells acts as an electron kinetic barrier and steric hindrance [103], thus reducing the electronic transmission path between the electrolyte solution and the electrode, leading to increase of Rct. According to this technique, a larger diameter corresponds to a larger Rct, thus indicating a higher number of bacteria bound to the antibodies on the electrode surface [102]. It is worth emphasizing that this LIG biosensors showed the capability to detect live *Salmonella* in chicken broth within a broad linear range (25 to 105 CFU mL<sup>-1</sup>) and at low detection limit (13 ± 7 CFU mL<sup>-1</sup>; n = 3, mean ± standard deviation). These results were obtained within an average response time of 22 minutes, without the requirement for preconcentration of the sample or methods of redox labeling. Furthermore, the LIG immunosensors demonstrated high selectivity, as it was proven by the absence of significant responses to other strains of bacteria.

#### 1.3.2. Pesticides

Organophosphate (OP) nerve-agent are routinely used as pesticides in agriculture and household purposes [106,107]. It represents a serious concern as they can be weaponized as chemical warfare agents (CWA) [108,109], which represents a major security challenge [110]. Therefore, there is an urgent need for rapid and selective pesticides monitoring due to the high toxicity of OP nerve-agents and pesticides [108,111,112].

Mishra et al. [113] developed a stretchable glove biosensor for monitoring of the organophosphorus chemical threats. Firstly, the reference electrodes and long serpentine structures of three-electrode system were fabricated on the index fingers of nitrile gloves using intrinsically

stretchable Ag/AgCl ink with platinum-catalyzed silicone elastomer Ecoflex through screen printing. Secondly, the working electrode and counter electrodes were printed by carbon inks mixed with polystyrene-block-polyisoprene-block-polystyrene (PS-PI-PS). Third, the serpentine interconnects were coated with a precise layer of insulation to create a dielectric barrier between the three electrodes and to prevent any potential short-circuits in the device while exposing the sensing area to square contact pads. Finally, the working electrode was modified by drop-coating with the mixture of solutions of organophosphorus hydrolase (OPH) and Nafion onto it (on the index finger) after cleaning it by cyclic voltammetry (CV) in the range of 0 to +1.0 V using 0.01 M sodium acetate buffer (pH 4.6) with a scan rate of 0.1 V/s for 20 cycles. Square-wave voltammetry (SWV) can be used for the analysis of catalytic reactions. The increased ratio of faradaic current to non-faradaic current allows for a lower limit of detection and for a higher sensitivity [114]. It features the following advantages: at first — it can be operated at high frequency [115] allowing for quick experiments that conserve electroactive species [116] and tend to result in less hindrance induced by non-electroactive products on the electrode surface [114]; at second — there is no need to exclude oxygen from the solution, because the reduction of oxygen is included in the background current [117]. The sensing mechanism of this biosensor can be described as follows: organophosphate (OP) nerve agents diffuse through the conductive semisolid gel matrix on the index finger sensing area and reach the OPH enzyme layer on the working electrode, where they are catalytically hydrolyzed by the organophosphate hydrolase (OPH) to yield p-nitrophenol. The presence or absence of the analyte is determined based on the presence or absence of the characteristic SWV peak (in this case it occurs at +0.85 V) which corresponds to the oxidation peak of p-nitrophenol. It should be noted that this glove sensor is intended for single use, which effectively eliminates the risk of the cross-sample contamination. The special serpentine structures provide sensors with superior intrinsic stretchability and mechanical deformation adaptability, with more detailed discussion in paragraph 2 of the section 2.2 Conductive electrodes.

Ahmad et al. [118] developed zinc oxide (ZnO)-based biosensor arranged on porous and flexible substrates (i. e., carbon paper and carbon fabric) assigned for the detection of organophosphate (OP) such as paraoxon. This sensor runs three-electrode system: firstly, Ag/AgCl wire saturated in 1M KCl was used as the reference electrode, and 2 mm diameter platinum wire was used as the counter electrode. Secondly, ZnO nanostructures were electrodeposited onto carbon paper/fabric after being treated with acetone bath and ultrasound, followed by oxygen plasma treatment to enhance the wettability of the substrate for manufacturing of the biosensor. Thirdly, the working electrode was immersed in acetylcholinesterase (AChE) solution to immobilize the AChE enzyme on Zn O. The sensing mechanism of the sensor can be described as follows: firstly, the three-electrode system and buffer phosphate saline electrolyte (PBS, pH=7.4) made up an electrochemical cell. Upon the addition of AChCl to the electrolyte, the amperometric current was measured. Here, the following reactions were observed: acetylthiocholine + H<sub>2</sub>O → AChEthiocholine + acetic acid (with AChE catalyzing, a); 2thiocholine — 2e<sup>-</sup> → dithio-bis-choline + 2H<sup>+</sup>(b). The amperometric measurement obtained at the oxidation potential of AChCl was equal to 0.4 V. Secondly, when the sensing material was exposed to OP, AChE interacted with OP. This led to the inactivation of AChE, which could no longer catalyze the hydrolysis of AChCl to generate thiocholine. As a result, reaction (a) was inhibited, thus leading to a decrease in the rate of reaction (b) eventually manifested as a decrease in the amperometric response. It is worth to note that the ZnO biosensors produced on the carbon fabric featured the more than sufficient results, including increased sensitivity, improved stability along with the detection range for OP of 0.5 nM<sup>-5</sup>  $\mu\text{M}$ .

#### 1.3.3. Biogenic amines

High concentrations of biogenic amines (BA) found in food are formed by microbial metabolism, which can be influenced by storage conditions and temperature. Consequently, the certain amount of BA is frequently utilized as an indicator for the food quality and safety [119]. High levels of BA in food can cause food poisoning, while low levels may lead to food intolerance [120]. Therefore, it is crucial to monitor BA to gain a useful insight into the real quality and preservation conditions of food products, and as a consequence, enable risk-reduction of food waste and foodborne illnesses [121,122].

Vanegas et al. [119] developed Laser scribed graphene (LSG) amperometric biosensor for the detection of BA levels in food samples. Firstly, the three-electrode system was fabricated using a UV laser stencil engraver (laser energy density was 1.7 J cm<sup>-2</sup>). Ag/Cl ink was applied to the reference electrode and the solder pads of the three electrodes to pre-

vent electrode breakage due to repeated application. Subsequently, a passivation layer of fast-drying nitrocellulose lacquer (approximately 200  $\mu\text{m}$  thick) was applied between the electrodes and the connectors to insulate the non-active features. Secondly, electroplated copper nanocubes were applied on the surface of the working electrode. Thirdly, the working electrode was biofunctionalized with purified diamine oxidase (DAO). The sensing mechanism can be described as follows: DAO enzyme catalyzes the deamination of primary amines, diamines, and substituted amines via oxidation to generate aldehyde, ammonia and hydrogen peroxide ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) [123].  $\text{H}_2\text{O}_2$  is then easily decomposed at the working electrode polarized at +500 mV, leading to production of an oxidative current. The following two equations can describe the chemical reaction process:  $\text{R-CH}_2\text{-NH}_2 + \text{H}_2\text{O} + \text{O}_2 \rightarrow \text{R-CHO} + \text{NH}_3 + \text{H}_2\text{O}_2$  (with catalyzing DAO, a);  $\text{H}_2\text{O}_2 \rightarrow 2\text{H}^+ + \text{O}_2 + 2\text{e}^-$  (at 500mV, b). This electrical response can be further correlated to the concentration of BA in the electrochemical cell via the calibration plots. It is worth to highlight that this amperometric biosensor performs well in regards of its electrochemical properties, with an average sensitivity to histamine of 23.3  $\mu\text{A}/\text{mM}$ , low limit of detection of 11.6  $\mu\text{M}$ , and with response time of 7.3 s. These results are comparable to those of biosensors made from materials of analytical grade.

## 2. Discussion

The increasingly prominent importance and huge market demand for food quality and safety, coupled with the fatal flaws exposed by traditional rigid sensors, including mechanical non-conformability, inaccurate or unreliable data collection caused by intermittent contact, and large space requirements, have led to numerous studies devoted to flexible sensors for food monitoring. Firstly, not inferior to rigid sensors, the flexible sensors also contain abundant number of transducers, such as resistors, electrochemical sensors, capacitors, etc. When flexible sensing materials encounter physical perturbations or chemical/biological analytes, their electrically-related physical properties like conductivity, work function and permittivity correspondingly change in one or more way, which changes are subsequently transformed into detectable signals by the transducer. The diversity of transduction mechanisms enables flexible sensors to operate according to a variety of sensing mechanisms, making the design of flexible sensors in principle almost unlimited. The detection indicators cover a wide range of physical parameters like temperature, humidity and pressure, as well as chemical parameters such as pH, multi-gases, pesticides, as well as the biological parameters such as foodborne pathogens and biogenic amines. Secondly, the flexible sensing materials with large specific surface area, high carrier mobility and carrier density, dense active areas, outstanding adjustability and processing capacities such as 2D carbon nanomaterials, conductive polymers and nanohybrid materials have additionally improved the sensitivity, stability and selectivity of flexible sensors. However, there are still some limitations such as high Young's modulus, poor biocompatibility and poor responsiveness [124], which make the design and development of flexible sensors quite challenging task. In this discussion we will explore the benefits, challenges and prospects of flexible sensors application for food quality monitoring.

### 2.1. Benefits

Flexible sensing in food monitoring has emerged as a game-changer that can control and prevent food-borne diseases, ensure consumers' health and safety, and promote the development of the food industry. Flexible sensors possess unique features, including light weight, portability, great flexibility, stretchability, foldability and adaptability, which make them more efficient and effective in food quality monitoring [124,125,126]. Flexible sensors, which refer to the combination of circuits and electronic components that can retain their functions under circumstances of geometrical bending or stretching, have a long history of innovation and still keep evolving along with the development of materials science [125,127]. Innovations in carbon nanomaterials, conductive polymers, metal-oxide based semiconductors (MOXs), 2D nanostructured materials [128,129,130,131], nanohybrid materials [78,132–138], and even optically transparent hydrogels [139], provide high sensitivity, fast response, low power consumption and long lifespan for the flexible sensors. The synergy between the material science and microfabrication technology has served as propulsion force in the advancement of flexible sensor design, with innovations in one and driving progress in the other. Flexible sensors in food monitoring precisely meet the needs of acquiring multiple parameter information in a small space, with more reasonable layout, being exposed to mechanical deformation, and conformably attaching to uneven surfaces. The application scenarios of flexible sensing in food monitoring are rapidly evolving, starting from measuring temperature, humidity, pH, multi-gases, microorganisms, pesticides, antibi-

otic residues etc. till grading of ripeness, freshness marking and so on. Herein, we systematically summarize and analyze the critical advantages of flexible sensors in the latest representative research in the field of food quality monitoring.

- Mechanical conformability: The flexibility absolutely stipulated by the flexible substrate contributes to the deformation dynamics of the sensors. Flexible substrates, represented by polymers, use these materials to accommodate strain in molecular level through the fabric of the chemical structure or adjusting the properties familiar to the polymer engineering community of professionals. Escobedo et al. [140] designed a strain sensor for monitoring the swollen food packages which is caused by food spoilage. The superior flexibility and excellent stretchability provided by substrate PDMS and sensing material PEDOT: PSS allow the sensor to be applied onto food packaging of various sizes and arbitrarily curved surfaces.
- Sensitivity: Flexible sensing materials such as 2D carbon nanomaterials, conductive polymers and nanohybrid materials provide sensors with higher sensitivity, better selectivity and lower threshold of detection due to their large specific surface area, high carrier mobility and carrier density, dense active areas, outstanding adjustability and processing capacities. Tang et al. [53] developed an ammonia sensor with Au interdigital electrodes (IDE) using PEDOT: PSS nanowires as the sensing material. The integrated  $\text{NH}_3$  sensing system showed the enhanced performance, with a detection limit of 100 ppb, as well as high selectivity and reproducibility. Zhu Xiaoyu and colleagues [78] fabricated a self-assembled phosphorene/ $\text{Ti}_3\text{C}_2\text{-MXene}$  nanohybrid-based flexible sensor to detect ultra-trace phyto regulator  $\alpha$ -naphthalene acetic acid. It can work in a wide linear range of 0.02–40  $\mu\text{M}$  with a low LOD of 1.6 nM. Yan et al. [57] developed a wearable paper-based ethylene gas sensor modified with SWCNTs-PdNPs-polystyrene microspheres composite for the real-time monitoring of fruit ripeness and corruption with a low threshold of detection of 100 ppb.
- Durability: The loading-unloading cycles imposed onto the flexible substrates can cause fatigue failure. And the mechanical deformation of flexible sensing materials can cause changes in their electrical properties as well, such as conductivity decrease. Therefore, durability and reliability is one of the key factors determining the prospects for the development of flexible sensors. Xia et al. [18] created a pressure sensor based on Ag nanowire/PDMS electrodes and a ZnO nanoparticle membrane used for grading of avocado ripeness. The sensor demonstrated stable functioning under 5,000 cycles of pressure in piezoelectric mode. The substrate did not reveal any mechanical fatigue failures that could have been caused by physical damage of the flexible sensing material that led to unfavorable changes to its resistance.
- Lightweight and thin: Flexible sensors' structure feature a very minimalistic design due to direct exposure of the sensor to the analyzed material, due to mixing or stacking it on the conductive electrodes and flexible substrates without the need for additional redundant components. The flexible substrates are mostly micrometer-scale polymer films or paper-based materials. The production methods for conductive electrodes such as LSG, inkjet-printing, drop-casting, screen print, spinning coating, dip coating, electrochemical-assisted deposition (ECAD), etc., do not significantly increase the thickness of the sensor. Sensing materials, such as carbon nanomaterials, conductive polymers, nanohybrid materials, etc., are modified on conductive electrodes by laser induction, printing, drop-casting, etc., and the gained increase in thickness still remains at the micrometer level only. All of these engineering design and manufacturing methods have brought significant progress in weight and thickness of the flexible sensors, thus distinguishing them from traditional rigid sensors.
- Wireless communication: If traditional wired technology is used in the lightweight flexible sensors for data transmission, their advantages in miniaturization and portability will be greatly lost. The flexible PCB antenna-based RFID/NFC communication is currently one of the quite refined solutions of data transmission for flexible sensors. Xiao and his team [1,24] has made significant progress in integrating flexible RFID into flexible sensor systems. Escobedo et al. [140] also used NFC technology for data communication within flexible sensors, as well as the achieved operation without batteries by using an NFC reader to power the cell through a custom-designed planar coil antenna.

Overall, the benefits of the flexible sensors in food quality monitoring are immense. This concept offers an innovative solution to the challenges posed by traditional rigid sensors, and its unique properties make it well-suited for food quality and safety monitoring. As the technology still keeps developing, it holds the potential to revolutionize the food industry and improve the health and safety of the consumers worldwide.

## 2.2. Challenges

Although flexible sensors have great potential and advantages in food quality monitoring, yet numerous issues and challenges remain in the future research and development of high-performance flexible sensors.

- Additional contamination: For flexible sensors that come in direct contact with food or living organisms, or those that are located in the same confined space, long-term toxicity of analyses and secondary contamination due to the passive transfer of the flexible substrates (e. g., metal oxide-polymer foil, carbon paper/cloth, etc.) and sensing materials (e. g., functionalized ink, LSG, heavy metal nanoparticles, etc.) through peeling or diffusion are critical areas of research in the future. The emergence of new materials, re-design of the sensor structures, appropriate arrangement, encapsulation, and innovation in surface/interface engineering can cope with these challenges.
- Performance improvement: Enhancement of both stretchability and sensitivity is another challenge for cutting-edge flexible sensors. The emergence of new intrinsically stretchable materials, the transformation from non-stretchable materials to stretchable materials through improvements with the help of geometric engineering methods, the combination of the most recent sensing materials, the fusion of multimodal information obtained from comprehensive indicators, the fusion of multiple transduction mechanisms for single indicators, combinations of the novel processing technologies can optimize the balance between sensitivity and stretchability.
- Fabricating tolerance control: The modification or assembly of sensing materials for flexible sensors requires the use of micro-nanofabrication techniques, like inkjet printing, screen printing, thin film deposition like electrochemical-assisted deposition (ECAD), spin coating, photolithography, etc. In the mass production process it is pretty challenging to maintain consistent geometric parameters and electrical performance of the sensing materials. This leads to emergence of new challenges for the practical application and commercial production of high-performance flexible sensors according to high-precision and high-sensitivity application scenarios. The stable and reliable calibration systems and advanced data processing are viable options to cope with this challenge.
- Energy consumption and regeneration: Energy consumption and regeneration are ongoing challenges in regards to the flexible sensors. In long-term monitoring activities such as food spoilage gas detection and cold chain temperature/humidity monitoring, the reversibility of sensing materials and the energy consumption of sensing systems are crucial issues to face with. The development of novel materials with good regeneration rate and the combination of miniaturized solar cells and supercapacitors are effective choices to overcome this challenge. Shahrabaki et al. [39] have achieved the outstanding results in the study of reversibility of flexible CO<sub>2</sub> sensors and provided reliable analysis of the working mechanism, which involves protonation and deprotonation. Xiao and colleagues [1,24] have achieved significant breakthroughs in the field of miniaturized power consumption and self-powered systems for the flexible sensors.

## 2.3. Prospects

The development of state-of-art flexible sensors for food quality monitoring is an emerging research field. Quality grading, monitoring of food spoilage, detection of foodborne pathogens, maintaining of the refrigerated supply chain marketability etc., have significant market potential in the field of food quality monitoring. Here we discuss several prospects of combining the flexible sensors for food quality monitoring with several emerging technologies. These prospects may represent feasible research directions for coping with significant demands and achieving practical development in food quality monitoring.

- Digital twins: Fresh fruits, seasonally available seafood obtained from natural wild sources/artificial aquaculture, and other typical perishable foods with a short term of expiry require strict monitoring of their quality and marketability. Digital twins technology has opened up

possibilities for real-time coupling with flexible sensor data, thus enabling the quantification of the trade-offs in maintaining food quality along with its marketability within the refrigerated supply chain [141].

- TENG-coupled: The triboelectric nanogenerator (TENG) generates electric power based on the triboelectrification (i. e., contact electrification) of two heterogenous materials and the electrostatic induction. Compared to electromagnetic and piezoelectric mechanisms, the TENG technology shows great promise due to its advantages such as simple and diverse configurations, excellent flexibility, high output performance and independence from some specific materials [142]. During food storage, lightless and dark environment is inevitable. By generating electricity through mechanical motion or friction, TENG provides the required power for the operation of the flexible sensors, and stores the excessive power in the supercapacitors. The combination of this technology enables power self-sufficiency, thus making flexible sensors more convenient and reliable in the practical applications.
- Flexible NFC chip: Installation of wireless communication chips enclosed in bulky rigid materials on the lightweight and thin flexible substrates significantly reduces the flexibility and stretchability of the sensors. Placing the flexible PCB antenna on the outer periphery of the flexible substrate, while positioning the flexible electrodes, sensing materials and flexible NFC chip within the circular area enclosed by the antenna, allows maintaining the least dimensional scales of the sensors. This highly integrated flexible sensing-communication system can greatly enhance the practicality of the flexible sensors. One midway approach is to integrate silicon-based microprocessor chips into a flexible substrate and thinning the silicon chips [143,144]. However, this method still relies on traditional high-costs manufacturing processes. Additionally, the island-like configuration cannot provide complete flexibility and stretchability to the chip. Another approach is to develop the intrinsically flexible processor. John Biggs and his team [145] at Arm have taken a groundbreaking step in the design of a flexible chip that is fabricated from metal-oxide TFTs arranged on a flexible substrate.
- Flexible on-chip spectral sensor: Vis/NIR light can penetrate into the flesh of malus, prunus, pyrus, and berry fruits, and by diffuse reflection it can collect physicochemical information such as soluble solids content (SSC), moisture content, firmness, titratable acidity (TA), extractability of anthocyanins (EA), and others with the help of the spectral information. Analyzing optical information is an important tool for food safety evaluation, quality control, and prediction of the optimal fruits harvesting date. Currently, due to the absence of flexible optical chips, researches on flexible optical sensors for food monitoring are still lacking. The emergence of flexible optical chips will bring new opportunities and possibilities in the field of flexible sensing used for food quality monitoring.

## 3. Conclusion

As one of the most important research direction in the field of flexible electronics, the flexible sensors have achieved remarkable results in wearable tools of health monitoring, high-sensitive detection of physicochemical parameters and the other fields. However, the development of flexible sensors for food quality monitoring still remains an emerging research area. The enormous, complex, and crucial demand for food quality monitoring encourages the urgent research on the novel cutting-edge flexible sensors. It is worth noting that the development in this emerging field greatly benefits from the cross-fertilization between the materials science, electrical engineering, information science, chemistry, physics, and energy research fields. In general, the flexible sensing and wearable technology have the potential to revolutionize the field of food quality monitoring. By providing more accurate and timely information about the quality and safety of food products, as well as assisting the individuals in making the informed decisions about their diets, they can significantly enhance the industry.

## REFERENCES

1. Xiao, X., Mu, B., Cao, G. (2021). Light-energy-harvested flexible wireless temperature-sensing patch for food cold storage. *Acs Applied Electronic Materials*, 3(7), 3015–3022. <https://doi.org/10.1021/acsaem.1c00251>
2. Fu, B., Labuza, T.P. (1992). Considerations for the application of time-temperature integrators in food distribution. *Journal of Food Distribution Research*, 23(1), 9–18. <http://doi.org/10.22004/ag.econ.27193>
3. Heard, B.R., Miller, Sh.A. (2018). Potential changes in greenhouse gas emissions from refrigerated supply chain introduction in a developing food system. *Environmental Science and Technology*, 53(1), 251–260. <https://doi.org/10.1021/acs.est.8b05322>
4. Müssig, S., Granath, T., Schembri, T., Fidler, F., Haddad, D., Hille, r K.-H. et al. (2019). Anisotropic magnetic supraparticles with a magnetic particle spectroscopy fingerprint as indicators for cold-chain breach. *ACS Applied Nano Materials*, 2(8), 4698–4702. <https://doi.org/10.1021/acsnanm.9b00977>
5. Xiao, X., Li, Z., Matetic, M., Bakaric, M.B., Zhang, X. (2017). Energy-efficient sensing method for table grapes cold chain management. *Journal of Cleaner Production*, 152, 77–87. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2017.03.090>
6. Taoukis, P.S., Koutsoumanis, K., Nychas, G.J.E. (1999). Use of time-temperature integrators and predictive modelling for shelf life control of chilled fish under

- dynamic storage conditions. *International Journal of Food Microbiology*, 53(1), 21–31. [https://doi.org/10.1016/s0168-1605\(99\)00142-7](https://doi.org/10.1016/s0168-1605(99)00142-7)
7. Russell, N.J. (2002). Bacterial membranes: The effects of chill storage and food processing. An overview. *International Journal of Food Microbiology*, 79(1–2), 27–34. [https://doi.org/10.1016/s0168-1605\(02\)00176-9](https://doi.org/10.1016/s0168-1605(02)00176-9)
  8. Escobedo, P., Bhattacharjee, M., Nikbakhtnasrabadi, F., Dahiya, R. (2021). Flexible strain and temperature sensing NFC tag for smart food packaging applications. *IEEE Sensors Journal*, 21(23), 26406–26414. <https://doi.org/10.1109/JSEN.2021.3100876>
  9. Nohria, R., Khillan, R.K., Su, Y., Dikshit, R., Lvov, Y., Varahramyan, K. (2006). Humidity sensor based on ultrathin polyaniline film deposited using layer-by-layer nano-assembly. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 114(1), 218–222. <https://doi.org/10.1016/j.snb.2005.04.034>
  10. Ayala-Zavala, J.F., Del-Toro-Sánchez, L., Alvarez-Parrilla, E., González-Aguilar, G.A. (2008). High relative humidity in-package of fresh-cut fruits and vegetables: Advantage or disadvantage considering microbiological problems and antimicrobial delivering systems? *Journal of Food Science*, 75(4), R41–R47. <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2008.00705.x>
  11. Yousefi, H., Su, H.M., Imani, S.M., Alkhalidi, K., Filipe, C. D. M., Didar, T. F. (2019). Intelligent food packaging: A review of smart sensing technologies for monitoring food quality. *ACS Sensors*, 4(4), 808–821. <https://doi.org/10.1021/acssensors.9b00440>
  12. McDaniel, C., Baker, R.C. (1977). Convenience food packaging and the perception of product quality. *Journal of Marketing*, 41(4), 57–58. <https://doi.org/10.1177/002224297704100406>
  13. Maddanimit, T., Mulla, I.S., Sainkar, S.R., Vijayamohan, K., Shaikh, K.I., Pa-tilet, A.S. et al. (2002). Humidity sensing properties of surface functionalised polyethylene and polypropylene films. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 81(2–3), 141–151. [https://doi.org/10.1016/S0925-4005\(01\)00944-3](https://doi.org/10.1016/S0925-4005(01)00944-3)
  14. Molina-Lopez, F., Briand, D., De Rooij, N.F. (2012). All additive inkjet printed humidity sensors on plastic substrate. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 166–167, 212–222. <https://doi.org/10.1016/j.snb.2012.02.042>
  15. Sarig, Y. (2000). Potential applications of artificial olfactory sensing for quality evaluation of fresh produce. *Journal of Agricultural Engineering Research*, 77(3), 239–258.
  16. Kress-Rogers, E., Brimelow, Ch.J.B. (2001). Instrumentation and sensors for the food industry. Vol. 65. Woodhead Publishing, 2001.
  17. Ribeiro, P., Cardoso, S., Bernardino, A., Jamone, L. (October 24, 2020). *Fruit quality control by surface analysis using a bio-inspired soft tactile sensor*. Proceeding of the 2020 IEEE/RSJ International Conference on Intelligent Robots and Systems (IROS), Las Vegas, NV, USA. <https://doi.org/10.1109/IROS45743.2020.9340955>
  18. Xia, J., Wang, X., Zhang, J., Kong, C., Huang, W., Zhang, X. (2022). Flexible dual-mechanism pressure sensor based on Ag nanowire electrodes for nondestructive grading and quality monitoring of fruits. *ACS Applied Nano Materials*, 5(8), 10652–10662. <https://doi.org/10.1021/acsnanm.2c01968.s001>
  19. Kar, E., Bose, N., Dutta, B., Mukherjee, N., Mukherjee, S. (2019). Ultraviolet-and microwave-protecting, self-cleaning e-skin for efficient energy harvesting and tactile mechanosensing. *ACS Applied Materials and Interfaces*, 11(19), 17501–17512. <https://doi.org/10.1021/acsaami.9b06452>
  20. Nychas, G.-J.E., Skandamis, P.N., Tassou, Ch.C., Koutsoumanis, K.P. (2008). Meat spoilage during distribution. *Meat Science*, 78(1–2), 77–89. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2007.06.020>
  21. Yoshida, C.M.P., Maciel, V.B.V., Mendonça, M.E.D., Franco, T.T. (2014). Chitosan biobased and intelligent films: Monitoring pH variations. *LWT-Food Science and Technology*, 55(1), 83–89. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2013.09.015>
  22. Weston, M., Geng, S., Chandrawati, R. (2021). Food sensors: Challenges and opportunities. *Advanced Materials Technologies*, 6(5), Article 2001242. <https://doi.org/10.1002/admt.20001242>
  23. Huang, W.D., Deb, S., Seo, Y.S., Rao, S., Chiao, M., Chiao, J. C. (2011). A passive radio-frequency pH-sensing tag for wireless food-quality monitoring. *IEEE Sensors Journal*, 12(3), 487–495. <https://doi.org/10.1109/JSEN.2011.2107738>
  24. Xiao, X., Mu, B., Cao, G., Yang, Y., Wang, M. (2022). Flexible battery-free wireless electronic system for food monitoring. *Journal of Science: Advanced Materials and Devices*, 7(2), Article 100430. <https://doi.org/10.1016/j.jsamd.2022.100430>
  25. Chen, Z., Cotterell, B., Wang, W., Guenther, E., Chua, S.-J. (2001). A mechanical assessment of flexible optoelectronic devices. *Thin Solid Films*, 394(1–2), 201–205. [https://doi.org/10.1016/S0040-6090\(01\)01138-5](https://doi.org/10.1016/S0040-6090(01)01138-5)
  26. Peng, C., Jia, Z., Bianculli, D., Li, T., Lou, J. (2011). In situ electro-mechanical experiments and mechanics modeling of tensile cracking in indium tin oxide thin films on polyimide substrates. *Journal of Applied Physics*, 109(10), Article 103530. <https://doi.org/10.1063/1.3592341>
  27. Park, S.K., Jeong, I.H., Dae, G.M., Won, K.K. (2003). Mechanical stability of externally deformed indium–tin–oxide films on polymer substrates. *Japanese Journal of Applied Physics*, 42(2R), Article 623. <https://doi.org/10.1143/JJAP.42.623>
  28. Yu, H.K., Dong, W.J., Jung, G.H., Lee, J.-L. (2011). Three-dimensional nano-branched indium-tin-oxide anode for organic solar cells. *ACS Nano*, 5(10), 8026–8032. <https://doi.org/10.1021/nm2025856>
  29. Hu, J., Stein, A., Bühlmann, P. (2016). Rational design of all-solid-state ion-selective electrodes and reference electrodes. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 76, 102–114. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2015.11.004>
  30. Harris, D.C. (2010). Quantitative Chemical Analysis. W. H. Freeman and Company, New York, 2010.
  31. Meng, Z., Stolz, R.M., Mendecki, L., Mirica, K.A. (2019). Electrically-transduced chemical sensors based on two-dimensional nanomaterials. *Chemical Reviews*, 119(1), 478–598. <https://doi.org/10.1021/acs.chemrev.8b00311>
  32. Kim, G.T., Paik, H.D., Lee, D.S. (2003). Effect of different oxygen permeability packaging films on the quality of sous-vide processed seasoned spinach soup. *Food Science and Biotechnology*, 12(3), 312–315.
  33. Mills, A. (2005). Oxygen indicators and intelligent inks for packaging food. *Chemical Society Reviews*, 34(12), 1003–1011. <https://doi.org/10.1039/b503997p>
  34. Won, S., Won, K. (2021). Self-powered flexible oxygen sensors for intelligent food packaging. *Food Packaging and Shelf Life*, 29, Article 100713. <https://doi.org/10.1016/j.foodpsl.2021.100713>
  35. King, A.D., Nagel, C.W. (1967). Growth inhibition of a *Pseudomonas* by carbon dioxide. *Journal of Food Science*, 32(5), 575–579. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1967.tb00836.x>
  36. Ammor, S., Tauveron, G., Dufour, E., Chevallier, I. (2006). Antibacterial activity of lactic acid bacteria against spoilage and pathogenic bacteria isolated from the same meat small-scale facility: 1-Screening and characterization of the antibacterial compounds. *Food Control*, 17(6), 454–461. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2005.02.006>
  37. Sivertsvik, M., Rosnes, J.T., Bergslien, H. (2002). Modified atmosphere packaging. Minimal Processing Technologies in The Food Industry. Chapter in a book: Minimal Processing Technologies in the Food Industries. Woodhead Publishing Ltd. United Kingdom. 2002. <https://doi.org/10.1533/9781855736795.61>
  38. Coyne, F.P. (1953). The effect of carbon dioxide on bacteria growth. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B, Containing Papers of a Biological Character*, 113(782), 196–217. <https://doi.org/10.1098/rspb.1953.0041>
  39. Shahrabaki, Z., Farajikhah, S., Ghasemian, M.B., Oveissi, F., Rath, R.J., Yun, J. et al. (2023). A Flexible and Polymer-Based Chemiresistive CO<sub>2</sub> Gas Sensor at Room Temperature. *Advanced Materials Technologies*, 8(10), Article 2201510. <https://doi.org/10.1002/admt.202201510>
  40. Cunningham, M.F., Jessop, P.G. (2016). An introduction to the principles and fundamentals of CO<sub>2</sub>-switchable polymers and polymer colloids. *European Polymer Journal*, 76, 208–215. <https://doi.org/10.1016/j.eurpolymj.2016.01.036>
  41. Liu, S., Armes, S.P. (2005). Synthesis and aqueous solution behavior of a pH-responsive schizophrenic diblock copolymer. *Langmuir*, 19(10), 4432–4438. <https://doi.org/10.1021/la020951l>
  42. Shahrabaki, Z., Oveissi, F., Farajikhah, S., Ghasemian, M.B., Jansen-van Vuuren, R.D., Jessop, P.G. et al. (2022). Electrical Response of Poly (N-[3-(dimethylamino) Propyl] Methacrylamide) to CO<sub>2</sub> at a Long Exposure Period. *ACS Omega*, 7(26), 22232–22243. <https://doi.org/10.1021/acsomega.2c00914>
  43. Alshamrani, A.K., Vanderveen, J.R., Jessop, P.G. (2016). A guide to the selection of switchable functional groups for CO<sub>2</sub>-switchable compounds. *Physical Chemistry Chemical Physics*, 18(28), 19276–19288. <https://doi.org/10.1039/c6cp03302d>
  44. Liu, H., Lin, S., Feng, Y., Theato, P. (2017). CO<sub>2</sub>-responsive polymer materials. *Polymer Chemistry*, 8(1), 12–23. <https://doi.org/10.1039/C6PY01101B>
  45. Liu, H., Zhao, Y., Dreiss, C.A., Feng, Y. (2014). CO<sub>2</sub>-switchable multi-compartment micelles with segregated corona. *Soft Matter*, 10(34), 6387–6391. <https://doi.org/10.1039/c4sm01207k>
  46. Yan, Q., Zhao, Y. (2013). CO<sub>2</sub>-stimulated diversiform deformations of polymer assemblies. *The Journal of the American Chemical Society*, 135(44), 16300–16303. <https://doi.org/10.1021/ja408655n>
  47. Cunningham, M.F., Jessop, P.G. (2019). Carbon dioxide-switchable polymers: Where are the future opportunities? *Macromolecules*, 52(18), 6801–6816. <https://doi.org/10.1021/acs.macromol.9b00914>
  48. Cai, C., Mo, J., Lu, Y., Zhang, N., Wu, Z., Wang, S. et al. (2021). Integration of a porous wood-based triboelectric nanogenerator and gas sensor for real-time wireless food-quality assessment. *Nano Energy*, 83, Article 105833. <https://doi.org/10.1016/j.nanoen.2021.105833>
  49. Silva, N.F.D., Almeida, C.M.R., Magalhães, J.M.C.S., Gonçalves, M.P., Freire, C., Delerue-Matos, C. (2019). Development of a disposable paper-based potentiometric immunosensor for real-time detection of a foodborne pathogen. *Biosensors and Bioelectronics*, 141, Article 111317. <https://doi.org/10.1016/j.bios.2019.111317>
  50. Ma, Z., Chen, P., Cheng, W., Yan, K., Pan, L., Shiet, Y. et al. (2018). Highly sensitive, printable nanostructured conductive polymer wireless sensor for food spoilage detection. *Nano Letters*, 18(7), 4570–4575. <https://doi.org/10.1021/acs.nanolett.8b01825>
  51. Matindoust, S., Farzi, A., Baghaei, N.M., Shahrokh Abadi, M.H., Zou, Z., Zheng, L.-R. (2017). Ammonia gas sensor based on flexible polyaniline films for rapid detection of spoilage in protein-rich foods. *Journal of Materials Science: Materials in Electronics*, 28, 7760–7768. <https://doi.org/10.1007/s10854-017-6471-z>
  52. Matindoust, S., Baghaei-Nejad, M., Shahrokh Abadi, M.H., Zou, Z., Zheng, L.-R. (2016). Food quality and safety monitoring using gas sensor array in intelligent packaging. *Sensor Review*, 36(2), 169–183. <https://doi.org/10.1108/SR-07-2015-0115>
  53. Tang, N., Zhou, C., Xu, L., Jiang, Y., Qu, H., Duan, X. (2019). A fully integrated wireless flexible ammonia sensor fabricated by soft nano-lithography. *ACS Sensors*, 4(3), 726–732. <https://doi.org/10.1021/acssensors.8b01690>
  54. Blackwood, D., Josowicz, M. (1991). Work function and spectroscopic studies of interactions between conducting polymers and organic vapors. *The Journal of Physical Chemistry*, 95(1), 493–502. <https://doi.org/10.1021/j100154a086>
  55. Pumera, M., Ambrosi, A., Bonanni, A., Chng, E.L.K., Poh, H.L. (2010). Graphene for electrochemical sensing and biosensing. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 29(9), 954–965. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2010.05.011>
  56. Javey, A., Kong, J. (2009). Carbon nanotube electronics. Springer Science and Business Media, LLC. New York, NY, United States. 2009.
  57. Yan, H., Zhao, G., Lu, W., Hu, C., Wang, X., Liu, G. et al. (2023). A flexible and wearable paper-based chemiresistive sensor modified with SWCNTs-PdNPs-polystyrene microspheres composite for the sensitive detection of ethylene gas: A new method for the determination of fruit ripeness and corruption. *Analytica Chimica Acta*, 1239, Article 340724. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2022.340724>
  58. Lelievre, J.-M., Latchè, A., Jones, B., Bouzayen, M., Pech, J.-C. (1997). Ethylene and fruit ripening. *Physiologia Plantarum*, 101(4), 727–739. <https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.1997.tb01057.x>
  59. Saraiva, L.A., Castelan, F.P., Gomes, B.L., Purgatto, E., Cordenunsi-Lysenko, B.R. (2018). Tap Mao bananas: Fast ripening and full ethylene perception at low doses. *Food Research International*, 105, 384–392. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2017.11.007>
  60. Cristescu, S.M., Mandon, J., Arslanov, D., De Pessemier, J., Hermans, C., Harren, F.J.M. (2013). Current methods for detecting ethylene in plants. *Annals of Botany*, 111(3), 347–360. <https://doi.org/10.1093/aob/mcs259>
  61. Almalric-Popescu, D., Bozon-Verduraz, F. (2001). Infrared studies on SnO<sub>2</sub> and Pd/SnO<sub>2</sub>. *Catalysis Today*, 70(1–3), 139–154. [https://doi.org/10.1016/S0920-5861\(01\)00414-X](https://doi.org/10.1016/S0920-5861(01)00414-X)

62. Kovtunov, K.V., Beck, I.E., Zhivonitko, V.V., Barskiy, D.A., Bukhtiyarov, V.I., Koptyug, I.V. (2012). Heterogeneous addition of H<sub>2</sub> to double and triple bonds over supported Pd catalysts: A parahydrogen-induced polarization technique study. *Physical Chemistry Chemical Physics*, 14(31), 11008–11014. <https://doi.org/10.1039/c2cp40690j>
63. Fei, H., Wu, G., Cheng, W.Y., Yan, W., Xu, H., Zhang, D. et al. (2019). Enhanced NO<sub>2</sub> sensing at room temperature with graphene via monodisperse polystyrene bead decoration. *ACS Omega*, 4(2), 3812–3819. <https://doi.org/10.1021/acsomega.8b03540>
64. Esser, B., Schnorr, J.M., Swager, T.M. (2012). Selective detection of ethylene gas using carbon nanotube-based devices: Utility in determination of fruit ripeness. *Angewandte Chemie International Edition*, 51(23), 5752–5756. <https://doi.org/10.1002/anie.201201042>
65. Liu, P., Sun, Q., Zhu, F., Liu, K., Jiang, K., Liu, L. et al. (2008). Measuring the work function of carbon nanotubes with thermionic method. *Nano Letters*, 8(2), 647–651. <https://doi.org/10.1021/nl0730817>
66. Yu, T., Cheng, X.L., Zhang, X., Sui L., Xu, Y., Gao, S. et al. (2015). Highly sensitive H<sub>2</sub>S detection sensors at low temperature based on hierarchically structured NiO porous nanowall arrays. *Journal of Materials Chemistry A*, 3(22), 11991–11999. <https://doi.org/10.1039/C5TA00811E>
67. Zhao, Q., Duan, Z., Yuan, Z., Li, X., Wang, S., Liuet, B. et al. (2020). High performance ethylene sensor based on palladium-loaded tin oxide: Application in fruit quality detection. *Chinese Chemical Letters*, 31(8), 2045–2049. <https://doi.org/10.1016/j.ccllet.2020.04.032>
68. Wang, S., Xiao, B., Yang, T., Wang, P., Xiao, C., Li, Z. et al. (2014). Enhanced HCHO gas sensing properties by Ag-loaded sunflower-like In<sub>2</sub>O<sub>3</sub> hierarchical nanostructures. *Journal of Materials Chemistry A*, 2(18), 6598–6604. <https://doi.org/10.1039/C3TA15110G>
69. Li, B., Li, M., Meng, F., Liu, J. (2019). Highly sensitive ethylene sensors using Pd nanoparticles and rGO modified flower-like hierarchical porous  $\alpha$ -Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub>. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 290, 396–405. <https://doi.org/10.1016/j.snb.2019.04.002>
70. Bartolucci, C., Antonacci, A., Arduini, F., Moscone, D., Fraceto, L., Camposet, E. et al. (2020). Green nanomaterials fostering agrifood sustainability. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 125, Article 115840. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2020.115840>
71. Karimian, N., Fakhri, H., Amidi, S., Hajian, A., Arduinie, F., Bagheri, H. (2019). A novel sensing layer based on metal-organic framework UiO-66 modified with TiO<sub>2</sub>-graphene oxide: Application to rapid, sensitive and simultaneous determination of paraoxon and chlorpyrifos. *New Journal of Chemistry*, 43(6), 2600–2609. <https://doi.org/10.1039/C8NJ06208K>
72. Aulakh, J.S., Malik, A.K., Kaur, V., Schmitt-Kopplin, P. (2005). A Review on solid phase micro extraction-high performance liquid chromatography (SPME-HPLC) analysis of pesticides. *Critical Reviews in Analytical Chemistry*, 35(1), 71–85. <https://doi.org/10.1080/10408340590947952>
73. Di Tuoro, D., Portaccio, M., Lepore, M., Arduini, F., Moscone, D., Bencivenga, U. et al. (2011). An acetylcholinesterase biosensor for determination of low concentrations of Paraoxon and Dichlorvos. *New Biotechnology*, 29(1), 132–138. <https://doi.org/10.1016/j.nbt.2011.04.011>
74. Dias, E., de Costa, F.G., Morais, S., de Lourdes Pereira, M. (2015). A review on the assessment of the potential adverse health impacts of carbamate pesticides. Chapter in a book: *Topics in Public Health*. IntechOpen Limited, London, United Kingdom. 2015. <https://doi.org/10.5772/59613>
75. Dömötöróvá, M., Matisová, E. (2008). Fast gas chromatography for pesticide residues analysis. *Journal of Chromatography A*, 1207(1–2), 1–16. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2008.08.063>
76. Romanholo, P.V.V., Razzino, C.A., Raymundo-Pereira, P.A., Prado, T.M., Machado, S.A.S., Sgobbi, L.F. (2021). Biomimetic electrochemical sensors: New horizons and challenges in biosensing applications. *Biosensors and Bioelectronics*, 185, Article 113242. <https://doi.org/10.1016/j.bios.2021.113242>
77. Paschoalin, R.T., Gomes, N.O., Almeida, G.F., Bilatto, S., Farinas, C.S., Machado, S.A.S. et al. (2022). Wearable sensors made with solution-blow spinning poly (lactic acid) for non-enzymatic pesticide detection in agriculture and food safety. *Biosensors and Bioelectronics*, 199, Article 113875. <https://doi.org/10.1016/j.bios.2021.113875>
78. Zhu, X., Lin, L., Wu, R., Zhu, Y., Sheng, Y., Nie, P. et al. (2021). Portable wireless intelligent sensing of ultra-trace phyto regulator  $\alpha$ -naphthalene acetic acid using self-assembled phosphorene/Ti<sub>3</sub>C<sub>2</sub>MXene nanohybrid with high ambient stability on laser induced porous graphene as nanozyme flexible electrode. *Biosensors and Bioelectronics*, 179, Article 113062. <https://doi.org/10.1016/j.bios.2021.113062>
79. Zheng, W., Zhang, P., Chen, J., Tian, W. B., Zhang, Y. M., Sun, Z. M. (2018). In situ synthesis of CNTs@Ti<sub>3</sub>C<sub>2</sub> hybrid structures by microwave irradiation for high-performance anodes in lithium ion batteries. *Journal of Materials Chemistry A*, 6(8), 3543–3551. <https://doi.org/10.1039/C7TA10394H>
80. Guo, X., Zhang, W., Zhang, J., Zhou, D., Tang, X., Xu, X. et al. (2020). Boosting sodium storage in two-dimensional phosphorene/Ti<sub>3</sub>C<sub>2</sub>MXene nanoarchitectures with stable fluorinated interphase. *ACS Nano*, 14(3), 3651–3659. <https://doi.org/10.1021/acsnano.0c00177>
81. Bard, A.J., Faulkner, L.R., White, H.S. (2022). *Electrochemical methods: Fundamentals and applications*. John Wiley and Sons, New York, Chichester, Weinheim, Brisbane, Singapore, Toronto. 2022.
82. Dmitrienko, S.G., Kochuk, E.V., Apyari, V.V., Tolmacheva, V.V., Zolotov, Y.A. (2014). Recent advances in sample preparation techniques and methods of sulfonamides detection — A review. *Analytica Chimica Acta*, 850, 6–25. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2014.08.023>
83. Baran, W., Adamek, E., Ziemiańska, J., Sobczak, A. (2011). Effects of the presence of sulfonamides in the environment and their influence on human health. *Journal of Hazardous Materials*, 196, 1–15. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2011.08.082>
84. García-Galán, M.J., Díaz-Cruz, M.S., Barceló, D. (2009). Combining chemical analysis and ecotoxicity to determine environmental exposure and to assess risk from sulfonamides. *Trac Trends in Analytical Chemistry*, 28(6), 804–819. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2009.04.006>
85. Valderas, M.W., Andi, B., Barrow, W.W., Cook, P.F. (2008). Examination of intrinsic sulfonamide resistance in *Bacillus anthracis*: A novel assay for dihydrodroperate synthase. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects*, 1780(5), 848–853. <https://doi.org/10.1016/j.bbagen.2008.02.003>
86. Fekadu, S., Alemayehu, E., Dewil, R., Van der Bruggen, B. (2019). Pharmaceuticals in freshwater aquatic environments: A comparison of the African and European challenge. *Science of the Total Environment*, 654, 324–337. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.11.072>
87. Liu, L., Wan, Q., Xu, X., Duan, S., Yang, C. (2017). Combination of micelle collapse and field-amplified sample stacking in capillary electrophoresis for determination of trimethoprim and sulfamethoxazole in animal-originated foodstuffs. *Food Chemistry*, 219, 7–12. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.09.118>
88. Xue, W., Li, F., Zhou, Q. (2019). Degradation mechanisms of sulfamethoxazole and its induction of bacterial community changes and antibiotic resistance genes in a microbial fuel cell. *Bioresource Technology*, 289, Article 121632. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2019.12.1632>
89. Ou, Y., Yao, L., Li, Y., Bai, C., Luque, R., Peng, G. (2020). Magnetically separable Fe-MIL-88B NH<sub>2</sub> carbonaceous nanocomposites for efficient removal of sulfamethoxazole from aqueous solutions. *Journal of Colloid and Interface Science*, 570, 163–172. <https://doi.org/10.1016/j.jcis.2020.02.116>
90. Fatta-Kassinos, D., Meric, S., Nikolaou, A. (2011). Pharmaceutical residues in environmental waters and wastewater: Current state of knowledge and future research. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 399, 251–275. <https://doi.org/10.1007/s00216-010-4300-9>
91. Zeng, Y., Li, Q., Wang, W., Wen, Y., Ji, K., Liu, X. et al. (2022). The fabrication of a flexible and portable sensor based on home-made laser-induced porous graphene electrode for the rapid detection of sulfonamides. *Micromolecular Journal*, 182, Article 107898. <https://doi.org/10.1016/j.microc.2022.107898>
92. Nayak, P., Kurra, N., Xia, C., Alshareef, H.N. (2016). Highly efficient laser scribed graphene electrodes for on-chip electrochemical sensing applications. *Advanced Electronic Materials*, 2(10), Article 1600185. <https://doi.org/10.1002/aelm.201600185>
93. Bakker, E., Telting-Diaz, M. (2002). Electrochemical sensors. *Analytical Chemistry*, 74(12), 2781–2800. <https://doi.org/10.1021/ac0202278>
94. FDA, U.S. (2013). *Guidance for industry. Bioanalytical method validation*. Retrieved from <https://ag-lab.org/sites/default/files/pdf/media/1/Bioanalytical%20method%20validation%20for%20industry.pdf> Accessed August 15, 2023
95. Abadias, M., Usall, J., Anguera, M., Solsona, C., Viñas, I. (2008). Microbiological quality of fresh, minimally-processed fruit and vegetables, and sprouts from retail establishments. *International Journal of Food Microbiology*, 123(1–2), 121–129. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2007.12.013>
96. Scallan, E., Hoekstra, R.M., Angulo, F.J., Tauxe, R.V., Widdowson, M.-A., Royet, S.L. et al. (2011). Foodborne illness acquired in the United States—major pathogens. *Emerging Infectious Diseases*, 17(1), 7–15. <https://doi.org/10.3201/eid1701.p11101>
97. Law, J.W.F., Ab Mutalib, N.S., Chan, K.G., Lee, L.-H. (2015). Rapid methods for the detection of foodborne bacterial pathogens: Principles, applications, advantages and limitations. *Frontiers in Microbiology*, 5, Article 770. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2014.00770>
98. Velusamy, V., Arshak, K., Korostynska, O., Oliwa, K., Adley, C. (2010). An overview of foodborne pathogen detection: In the perspective of biosensors. *Biotechnology Advances*, 28(2), 232–254. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2009.12.004>
99. Silva, N.F.D., Magalhães, J.M.C.S., Barroso, M.F., Oliva-Teles, T., Freire, C., Delerue-Matos, C. (2019). In situ formation of gold nanoparticles in polymer inclusion membrane: Application as platform in a label-free potentiometric immunosensor for *Salmonella typhimurium* detection. *Talanta*, 194, 134–142. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2018.10.024>
100. Soares, R.R.A., Hjort, R.G., Pola, C.C., Parate, K., Reis, E.L., Soares, N.F.F. et al. (2020). Laser-induced graphene electrochemical immunosensors for rapid and label-free monitoring of *Salmonella enterica* in chicken broth. *ACS Sensors*, 5(7), 1900–1911. <https://doi.org/10.1021/acssensors.9b02345>
101. Garland, N.T., McLamore, E.S., Cavallaro, N.D., Mendivelso-Perez, D., Smith, E.A., Jing, D. et al. (2018). Flexible laser-induced graphene for nitrogen sensing in soil. *ACS Applied Materials and Interfaces*, 10(45), 39124–39133. <https://doi.org/10.1021/acsaami.8b10991>
102. Dos Santos, M.B., Azevedo, S., Aguilis, J.P., Prieto-Simón, B., Sporer, C., Torrents, E. et al. (2015). Label-free ITO-based immunosensor for the detection of very low concentrations of pathogenic bacteria. *Bioelectrochemistry*, 101, 146–152. <https://doi.org/10.1016/j.bioelechem.2014.09.002>
103. Mutreja, R., Jariyal, M., Pathania, P., Sharma, A., Sahoo, D.K., Suriel, C.R. (2016). Novel surface antigen based impedimetric immunosensor for detection of *Salmonella typhimurium* in water and juice samples. *Biosensors and Bioelectronics*, 85, 707–713. <https://doi.org/10.1016/j.bios.2016.05.079>
104. Ding, S., Mosher, C., Lee, X.Y., Das, S.R., Cargill, A.A., Tang, X. et al. (2017). Rapid and label-free detection of interferon gamma via an electrochemical aptasensor comprising a ternary surface monolayer on a gold interdigitated electrode array. *ACS Sensors*, 2(2), 210–217. <https://doi.org/10.1021/acssensors.6b00581>
105. Ruecha, N., Shin, K., Chailapakul, O., Rodthongkum, N. (2019). Label-free paper-based electrochemical impedance immunosensor for human interferon gamma detection. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 279, 298–304. <https://doi.org/10.1016/j.snb.2018.10.024>
106. Marrs, T.C. (2012). *Mammalian toxicology of insecticides*. Royal Society of Chemistry, United Kingdom. 2012. <https://doi.org/10.1039/9781849733007>
107. Sharma, D., Nagpal, A., Pakade, Y.B., Katnoria, J.K. (2010). Analytical methods for estimation of organophosphorus pesticide residues in fruits and vegetables: A review. *Talanta*, 82(4), 1077–1089. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2010.06.043>
108. Kingery, A.F., Allen, H.E. (1995). The environmental fate of organophosphorus nerve agents: A review. *Toxicological and Environmental Chemistry*, 47(3–4), 155–184. <https://doi.org/10.1080/02727229509358137>

109. Bajgar, J. (2004). Organophosphates/nerve agent poisoning: Mechanism of action, diagnosis, prophylaxis, and treatment. *Advances in Clinical Chemistry*, 38(1), 151–216. [https://doi.org/10.1016/s0065-2423\(04\)38006-6](https://doi.org/10.1016/s0065-2423(04)38006-6)
110. Noort, D., Benschop, H.P., Black, R.M. (2002). Biomonitoring of exposure to chemical warfare agents: A review. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 184(2), 116–126. <https://doi.org/10.1006/taap.2002.9449>
111. Zhang, W., Asiri, A.M., Liu, D., Du, D., Lin, Y. (2014). Nanomaterial-based biosensors for environmental and biological monitoring of organophosphorus pesticides and nerve agents. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 54, 1–10. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2013.10.007>
112. Wang, J., Krause, R., Block, K., Musameh, M., Mulchandani, A., Schöning, M.J. (2003). Flow injection amperometric detection of OP nerve agents based on an organophosphorus-hydrolase biosensor detector. *Biosensors and Bioelectronics*, 18(2–3), 255–260. [https://doi.org/10.1016/s0956-5663\(02\)00178-1](https://doi.org/10.1016/s0956-5663(02)00178-1)
113. Mishra, R.K., Hubble, L.J., Martín, A., Kumar, R., Barfidokht, A., Kim, J. et al. (2017). Wearable flexible and stretchable glove biosensor for on-site detection of organophosphorus chemical threats. *ACS Sensors*, 2(4), 553–561. <https://doi.org/10.1021/acssensors.7b00051>
114. Chen, A., Shah, B. (2013). Electrochemical sensing and biosensing based on square wave voltammetry. *Analytical Methods*, 5(9), 2158–2173. <https://doi.org/10.1039/C3AY40155C>
115. Gupta, V.K., Jain, R., Radhapyari, K., Jadon, N., Agarwal, S. (2011). Voltammetric techniques for the assay of pharmaceuticals — A review. *Analytical Biochemistry*, 408(2), 179–196. <https://doi.org/10.1016/j.ab.2010.09.027>
116. Laborda, E., Molina, A., Martínez-Ortiz, F., Compton, R.G. (2012). Electrode modification using porous layers. Maximising the analytical response by choosing the most suitable voltammetry: Differential Pulse vs Square Wave vs Linear sweep voltammetry. *Electrochimica Acta*, 73, 3–9. <https://doi.org/10.1016/j.electacta.2011.07.107>
117. Uslu, B., Ozkan, S.A. (2011). Electroanalytical methods for the determination of pharmaceuticals: A review of recent trends and developments. *Analytical Letters*, 44(16), 2644–2702. <https://doi.org/10.1080/00032719.2011.553010>
118. Fallatah, A., Kuperus, N., Almomtan, M., Padalkar, S. (2022). Sensitive biosensor based on shape-controlled ZnO Nanostructures grown on flexible porous substrate for pesticide detection. *Sensors*, 22(9), Article 3522. <https://doi.org/10.3390/s22093522>
119. Vanegas, D.C., Patiño, L., Mendez, C., Oliveira, D.A.d., Torres, A.M., Gomes, C.L. et al. (2018). Laser scribed graphene biosensor for detection of biogenic amines in food samples using locally sourced materials. *Biosensors*, 8(2), Article 42. <https://doi.org/10.3390/bios8020042>
120. Taylor, S.L., Eitenmiller, R.R. (1986). Histamine food poisoning: Toxicology and clinical aspects. *CRC Critical Reviews in Toxicology*, 17(2), 91–128. <https://doi.org/10.3109/10408448609023767>
121. Bülbül, G., Hayat, A., Andreescu, S. (2015). Portable nanoparticle-based sensors for food safety assessment. *Sensors*, 15(12), 30736–30758. <https://doi.org/10.3390/s151229826>
122. Hanak, E., Boutrif, E., Fabre, P., Pineiro, M. (December 11–13, 2000). *Food safety management in developing countries*. Proceedings of the international workshop, CIRAD-FAO, Montpellier, France.
123. Bóka, B., Adányi, N., Virág, D., Sebela, M., Kiss, A. (2012). Spoilage detection with biogenic amine biosensors, comparison of different enzyme electrodes. *Electroanalysis*, 24(1), 181–186. <https://doi.org/10.1002/elan.201100419>
124. Hu, L., Chee, P.L., Sugiarto, S., Yu, Y., Shi, Ch., Yan, R. et al. (2022). Hydrogel-based flexible electronics. *Advanced Materials*, 35(14), Article 2205326. <https://doi.org/10.1002/adma.202205326>
125. Guo, J., Yu, Y., Cai, L., Wang, Y., Shi, K., Shang, L. et al. (2021). Microfluidics for flexible electronics. *Materials Today*, 44, 105–135. <https://doi.org/10.1016/j.mattod.2020.08.017>
126. Bao, Z., Chen, X. (2016). Flexible and Stretchable Devices. *Advanced Materials*, 28(22), 4177–4179. <https://doi.org/10.1002/adma.201601422>
127. Crabb, R.L., Treble, F.C. (1967). Thin silicon solar cells for large flexible arrays. *Nature*, 213, 1223–1224. <https://doi.org/10.1038/2131223a0>
128. Sun, X., Qin, Z., Ye, L., Zhang, H., Yu, Q., Wu, X. et al. (2020). Carbon nanotubes reinforced hydrogel as flexible strain sensor with high stretchability and mechanically toughness. *Chemical Engineering Journal*, 382, Article 122832. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2019.122832>
129. Qin, Z., Sun, X., Yu, Q., Zhang, H., Wu, X., Yao, M. et al. (2020). Carbon nanotubes/hydrophobically associated hydrogels as ultrastretchable, highly sensitive, stable strain, and pressure sensors. *ACS Applied Materials and Interfaces*, 12(4), 4944–4953. <https://doi.org/10.1021/acsami.9b21659>
130. Li, X., Zhang, R., Yu, W., Wang, K., Wei, J., Wu, D. et al. (2012). Stretchable and highly sensitive graphene-on-polymer strain sensors. *Scientific Reports*, 2(1), Article 870. <https://doi.org/10.1038/srep00870>
131. Yan, C., Wang, J., Kang, W., Cui, M., Wang, X., Foo, C.Y. et al. (2014). Highly stretchable piezoresistive graphene-nanocellulose nanopaper for strain sensors. *Advanced Materials*, 26(13), 2022–2027. <https://doi.org/10.1002/adma.201304742>
132. Tabish, M., Malik, M.U., Khan, M.A., Yasin, G., Asif, H.M., Anjum, M.J. et al. (2021). Construction of NiCo/graphene nanocomposite coating with bulge-like morphology for enhanced mechanical properties and corrosion resistance performance. *Journal of Alloys and Compounds*, 867, Article 159138. <https://doi.org/10.1016/j.jallcom.2021.159138>
133. Nadeem, M., Yasin, G., Arif, M., Tabassum, H., Bhatti, M.H., Mehmood, M. et al. (2021). Highly active sites of Pt/Er dispersed N-doped hierarchical porous carbon for trifunctional electrocatalyst. *Chemical Engineering Journal*, 409, Article 128205. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2020.128205>
134. Yasin, G., Arif, M., Mehtab, T., Shakeel, M., Mushtaq, M.A., Kumar, A. et al. (2020). A novel strategy for the synthesis of hard carbon spheres encapsulated with graphene networks as a low-cost and large-scalable anode material for fast sodium storage with an ultralong cycle life. *Inorganic Chemistry Frontiers*, 7(2), 402–410. <https://doi.org/10.1039/C9QI01105F>
135. Ibraheem, S., Chen, S., Peng, L., Li, J., Li, L., Liao, Q. et al. (2020). Strongly coupled iron selenides-nitrogen-bond as an electronic transport bridge for enhanced synergistic oxygen electrocatalysis in rechargeable zinc-O<sub>2</sub> batteries. *Applied Catalysis B: Environmental*, 265, Article 118569. <https://doi.org/10.1016/j.apcatb.2019.118569>
136. Nadeem, M., Yasin, G., Arif, M., Bhatti, M.H., Sayin, K., Mehmood, M. et al. (2020). Pt-Ni@PC900 hybrid derived from layered-structure Cd-MOF for fuel cell ORR activity. *ACS Omega*, 5(5), 2123–2132. <https://doi.org/10.1021/acsomega.9b02741>
137. Hangarter, C.M., Chartuprayoon, N., Hernández, S.C., Choa, Y., Myung, N.V. (2013). Hybridized conducting polymer chemiresistive nano-sensors. *Nanotoday*, 8(1), 39–55. <https://doi.org/10.1016/j.nantod.2012.12.005>
138. Miller, D.R., Akbar, S.A., Morris, P.A. (2014). Nanoscale metal oxide-based heterojunctions for gas sensing: A review. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 204, 250–272. <https://doi.org/10.1016/j.snb.2014.07.074>
139. Giaretta, J.E., Duan, H., Farajikah, S., Oveissi, F., Dehghani, F., Naficy, S. (2022). A highly flexible, physically stable, and selective hydrogel-based hydrogen peroxide sensor. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 371, Article 132483. <https://doi.org/10.1016/j.snb.2022.132483>
140. Escobedo, P., Bhattacharjee, M., Nikbakhtnasrabadi, F., Dahiya, R. (2021). Flexible strain and temperature sensing NFC tag for smart food packaging applications. *IEEE Sensors Journal*, 21(23), 26406–26414. <https://doi.org/10.1109/JSEN.2021.3100876>
141. Shrivastava, C., Berry, T., Cronje, P., Schudel, S., Defraeye, T. (2022). Digital twins enable the quantification of the trade-offs in maintaining citrus quality and marketability in the refrigerated supply chain. *Nature Food*, 3(6), 413–427. <https://doi.org/10.1038/s43016-022-00497-9>
142. Zhou, Y., Wan, C., Yang, Y., Yang, H., Wang, S., Dai, Z. et al. (2018). Highly stretchable, elastic, and ionic conductive hydrogel for artificial soft electronics. *Advanced Functional Materials*, 29(1), Article 1806220. <https://doi.org/10.1002/adfm.201806220>
143. Gupta, S., Navaraj, W.T., Lorenzelli, L., Dahiya, R. (2018). Ultra-thin chips for high-performance flexible electronics. *npj Flexible Electronics*, 2(1), Article 8. <https://doi.org/10.1038/s41528-018-0021-5>
144. Harendt, C., Kostelnik, J., Kugler, A., Lorenz, E., Saller, S., Schreivogel, A. et al. (2015). Hybrid Systems in Foil (HySiF) exploiting ultra-thin flexible chips. *Solid-State Electronics*, 113, 101–108. <https://doi.org/10.1016/j.sse.2015.05.023>
145. Biggs, J., Myers, J., Kufel, J., Ozer, E., Craske, S., Sou, A. et al. (2021). A natively flexible 32-bit Arm microprocessor. *Nature*, 595(7868), 532–536. <https://doi.org/10.1038/s41586-021-03625-w>

AUTHOR INFORMATION	СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ
<b>Affiliation</b>	<b>Принадлежность к организации</b>
<p><b>Dongjie Luo</b>, Bachelor, College of Engineering, China Agricultural University Beijing, 100083, PR China Tel.: +86-1305-120-91-54 E-mail: dongjieluo@163.com ORCID: <a href="http://orcid.org/0009-0003-4649-021X">http://orcid.org/0009-0003-4649-021X</a></p> <p><b>Marina A. Nikitina</b>, Doctor of Technical Sciences, Docent, Leading Scientific Worker, the Head of the Direction of Information Technologies of the Center of Economic and Analytical Research and Information Technologies, V. M. Gorbato- tov Federal Research Center for Food Systems 26, Talalikhina str., 109316, Moscow, Russia. Tel: +7-495-676-95-11 extension 297 E-mail: m.nikitina@fncps.ru ORCID: <a href="https://orcid.org/0000-0002-8313-4105">https://orcid.org/0000-0002-8313-4105</a></p> <p><b>Xinqing Xiao</b>, Doctor of Engineering, Associate Professor, Beijing Laboratory of Food Quality and Safety, College of Engineering, China Agricultural University Beijing, 100083, PR China. Tel.: +86-158-0122-7781 E-mail: xxqjd@cau.edu.cn ORCID: <a href="https://orcid.org/0000-0002-9512-4000">https://orcid.org/0000-0002-9512-4000</a> * corresponding author</p>	<p><b>Люо Дунцзе</b> — бакалавр, Инженерный колледж, Китайский сельскохозяйственный университет 100083, Китайская Народная Республика, Пекин Тел.: +86-1305-120-91-54 E-mail: dongjieluo@163.com ORCID: <a href="http://orcid.org/0009-0003-4649-021X">http://orcid.org/0009-0003-4649-021X</a></p> <p><b>Никитина Марина Александровна</b> — доктор технических наук, доцент, ведущий научный сотрудник, руководитель направления Центра экономико-аналитических исследований и информационных технологий, Федеральный научный центр пищевых систем им. В. М. Горбатова 109316, Москва, Талалихина, 26 Тел.: +7-495-676-95-11 (297) E-mail: m.nikitina@fncps.ru ORCID: <a href="https://orcid.org/0000-0002-8313-4105">https://orcid.org/0000-0002-8313-4105</a></p> <p><b>Сяо Синьцин</b> — доктор технических наук, научный сотрудник, Пекинская лаборатория качества и безопасности пищевых продуктов, Инженерный колледж, Китайский сельскохозяйственный университет 100083, Китайская Народная Республика, Пекин Тел.: +86-158-0122-7781 E-mail: xxqjd@cau.edu.cn ORCID: <a href="https://orcid.org/0000-0002-9512-4000">https://orcid.org/0000-0002-9512-4000</a> * автор для контактов</p>
<b>Contribution</b>	<b>Критерии авторства</b>
Authors equally relevant to the writing of the manuscript, and equally responsible for plagiarism.	Авторы в равных долях имеют отношение к написанию рукописи и одинаково несут ответственность за плагиат.
<b>Conflict of interest</b>	<b>Конфликт интересов</b>
The authors declare no conflict of interest.	Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.



DOI: <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2024-7-1-15-21>

Received 18.08.2023

Accepted for revised 06.01.2024

Accepted for publication 26.01.2024

© Gutnov A. V., Kachmazov G. S., Chalikidi P. N., Tuaeava A. Yu., 2024

Available online at <https://www.fsjour.com/jour>

Original scientific article

Open access

## GAS CHROMATOGRAPHY-MASS SPECTROMETRY CHARACTERIZATION OF THE AROMA OF OSSETIAN CHEESES

Andrey V. Gutnov<sup>1\*</sup>, Gennady S. Kachmazov<sup>1</sup>, Petrakis N. Chalikidi<sup>1</sup>, Albina Yu. Tuaeava<sup>2</sup><sup>1</sup> North-Ossetian State University, Vladikavkaz, Russia<sup>2</sup> National Research Center "Kurchatov Institute", Moscow, Russia

### KEY WORDS:

Ossetian cheese, aroma, gas chromatography-mass spectrometry, metabolism, biochemistry

### ABSTRACT

The aim of the study was the qualitative and quantitative determination of volatile aroma compounds and their formation pathways in brine Ossetian cheeses. Volatile components of cheeses were isolated by steam distillation and extraction with dichloromethane, with their subsequent determination and quantification by gas chromatography-mass spectrometry. The results of the analysis are presented according to the structural classes of the main chemical components and the corresponding microbial metabolic processes. Four processes were found to be the main contributors to flavor formation: lipolysis, proteolysis, glycolysis, and a number of oxidative enzymatic transformations. Lipolysis of the fatty fraction of cheeses is a source of formation of volatile carboxylic acids and their esters. Proteolysis of the casein fraction yields branched alcohols, aldehydes, and a number of aromatic and heteroaromatic compounds. Glycolysis of the carbohydrate fraction is a source of ethanol formation, which is the main cause of the dominance of ethyl esters in the ester fraction. Redox enzymatic transformations mainly determine the biosynthesis of unbranched aldehydes, ketones and lactones. A clear distinction between retail and homemade cheeses was observed, due to the different technological approaches to the cheese preparation. The structural-chemical and quantitative evolution of the volatile composition of the studied cheese samples during ripening is tentatively shown. From the authors' point of view, the aromatic composition of the Tib cheese sort is the most consistent with the Ossetian cheese standard. This study represents the first gas chromatographic study of Ossetian cheeses and aims to create objective criteria for controlling technological processes and product quality during production and storage in the food industry.

Поступила 18.08.2023

Поступила после рецензирования 06.01.2024

Принята в печать 26.01.2024

© Гутнов А. В., Качмазов Г. С., Чаликиди П. Н., Туаева А. Ю., 2024

<https://www.fsjour.com/jour>

Научная статья

Open access

## ГАЗОВАЯ ХРОМАТО-МАСС-СПЕКТРОМЕТРИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА АРОМАТА ОСЕТИНСКИХ СЫРОВ

Гутнов А. В.<sup>1\*</sup>, Качмазов Г. С.<sup>1</sup>, Чаликиди П. Н.<sup>1</sup>, Туаева А. Ю.<sup>2</sup><sup>1</sup> Северо-Осетинский государственный университет, Владикавказ, Россия<sup>2</sup> Научно-исследовательский центр «Курчатовский институт», Москва, Россия

### КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: АННОТАЦИЯ

осетинский сыр, аромат, газовая хромато-масс-спектрометрия, метаболизм, биохимия

Целью исследования являлось качественное и количественное определение летучих ароматических соединений и путей их образования в рассольных осетинских сырах. Летучие компоненты сыров выделяли путем паровой дистилляции и экстракции дихлорметаном, с их последующим определением и квантификацией методом GC-MS. Результаты анализа представлены по структурным классам основных химических компонентов и соответствующим микробиологическим метаболическим процессам. Было установлено, что главный вклад в ароматообразование вносят четыре процесса: липолиз, протеолиз, гликолиз, а также ряд оксидативных ферментных превращений. Липолиз жирной фракции сыров является источником образования летучих карбоновых кислот и их эфиров. Протеолиз казеиновой фракции дает разветвленные спирты, альдегиды, а также ряд ароматических и гетероароматических соединений. Гликолиз углеводной фракции является источником образования этанола, главной причины доминирования этиловых эфиров в эфирной фракции. Окислительно-восстановительные ферментные превращения определяют главным образом биосинтез неразветвленных альдегидов и кетонов, а также лактонов. Отмечено четкое различие между розничными и домашними сырами, что связано с различными технологическими подходами к приготовлению сыров. Предварительно показана структурнохимическая и количественная эволюция летучего состава исследуемых образцов сыра в процессе созревания. С точки зрения авторов ароматический состав сорта сыра Тиб представляет собой наиболее соответствующий эталону осетинского сыра. Данное исследование представляет собой первое газхроматографическое исследование осетинских сыров и имеет целью создание объективных критериев для контроля технологических процессов и качества продукта при получении и хранении в пищевой промышленности.

### 1. Introduction

The most authentic Ossetian cheeses are produced in the highlands and foothills of the Republic of North Ossetia-Alania. This can be explained by the still preserved tradition of production, the floral characteristics of diverse alpine pastures, the characteristics of mountain cattle breeds and the specific microbiological diversity of mountain areas. Among many factors, bacteria and yeasts that occupy specific ecological niches are the most important factors determining the quality of raw milk, the microbiological composition of fermentation and, altogether,

the brine cheeses produced. A comprehensive study of metabolites of bacterial and yeast communities in Ossetian cheeses could explain the processes developing throughout brine ripening and the formation of the best consumer characteristics of the final product. It should also be noted that the tradition of making Ossetian cheese is closely connected with the tradition of making Ossetian pies popular in Russia, where the former serves as one of the main components and cannot be replaced by other types of cheese without losing their original properties. Unfortunately, the tradition of making Ossetian cheese is currently under threat for a

FOR CITATION: Gutnov, A. V., Kachmazov, G. S., Chalikidi, P. N., Tuaeava, A. Yu. (2024). Gas chromatography-mass spectrometry characterization of the aroma of Ossetian cheeses. *Food systems*, 7(1), 15-21. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2024-7-1-15-21>

Для ЦИТИРОВАНИЯ: Гутнов, А. В., Качмазов, Г. С., Чаликиди, П. Н., Туаева, А. Ю. (2024). Газовая хромато-масс-спектрометрическая характеристика аромата осетинских сыров. *Пищевые системы*, 7(1), 15-21. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2024-7-1-15-21>

number of reasons. Among them are the use of compositional bacterial starters, often not intended for this purpose, instead of traditional rennet, the regulatory requirement to use pasteurized milk instead of traditional raw milk, difficulties in keeping milk producing breeds and relatively low productivity of the mountain cattle, giving a competitive advantage to the industrial milk production. In this regard, the main task is not only to maintain the raw material base and preserve traditional methods of cheese production, but also to develop multiple analytical methods and, on their basis, objective criteria for assessing the conformity and quality of the product. The latter is the main goal of our current work and one of the first steps in this direction.

To date there has been only one such study on Ossetian cheese, where polar water-soluble organic acids (lactic, acetic, etc.) in Ossetian cheese samples were determined and quantified by HPLC [1]. On the other hand, no studies of Ossetian cheese have yet been conducted using gas chromatography-mass spectrometry, despite the fact that this method allows characterization of a much wider range of volatile metabolites and therefore is routinely used in the literature, for example, for reliable qualitative and quantitative characterization of volatile composition of semi-hard Spanish goat cheeses, Gouda and Cheddar cheeses [2–5].

Volatile aroma substances play an important role in the flavor of cheese. The typical flavor of cheese is a result of a combination of volatile substances produced mainly by four processes: lipolysis of the fatty fraction of cheese, proteolysis of casein protein, microbiological metabolism of lactose, lactates and citrates, and some oxidative enzymatic transformations of the lipid fraction. All these transformations are carried out by the enzyme systems of microorganisms inhabiting both the interior and the surface of cheese heads. The microbiota of cheese is very complex and comprises different types of bacteria, yeasts and molds which have been the subject of numerous articles, reviews and books [6–7].

Lipolysis of the fat fraction produces fatty acids, which are flavor-forming compounds that give the product the main characteristic cheese flavors, especially short-chain and middle-chain fatty acids [8–9]. Lipolysis can occur when the milk fat is exposed to lipases or esterases [10–11]. The source of these enzymes is milk itself (lipoprotein lipase), psychrophilic bacteria present in the raw milk, lipase contamination during the cheese-making process, and numerous lipase-producing microorganisms that develop during cheese ripening, introduced either intentionally (starter bacteria, specific molds or yeasts) or unintentionally (non-starter lactic acid bacteria, molds, yeasts). In turn, fatty acids may be precursors to other compounds, such as esters resulting from esterification of fatty acids with alcohols by the action of mainly esterases of lactic acid bacteria, as well as lactones, ketones and aldehydes formed in oxidative processes from long-chain saturated and unsaturated fatty acids by lipooxygenases in *Penicillium roqueforti*, *Penicillium camemberti*, *Geotrichum candidum* and lipooxygenases produced by the rumen microflora migrating down the gastrointestinal tract.

Proteolysis of proteins during the cheese ripening plays an important role in the texture formation [12–13]. However, it also affects the flavor of cheese through the formation of peptides and free amino acids. Large peptides do not contribute directly to the cheese flavor, but shorter peptides have varying degrees of characteristic bitterness, many of them being bioactive [14]. The peptidases and proteinases that catalyze proteolysis come from several major sources, namely the coagulant (pepsin, proteinases found in *Rhizomucor*, *Cryphonectria parasitica* or *Cynara cardunculus*), the milk itself (e. g. plasmin, the intrinsic proteinase in milk), lactic acid starters and other secondary inoculants (e. g. *Propionibacterium freudenreichii*, *Penicillium roqueforti*, *Penicillium camemberti*), as well as from the complex Gram-positive bacterial microflora formed on the surface of cheeses, and, in some cases, exogenous peptidases or proteinases added to milk or curd to accelerate ripening. The free amino acids produced by the hydrolytic processes are substrates for a number of further catabolic reactions that produce many important flavor compounds.

The catabolism of amino acids in cheese (its most important direction) is initiated by the action of aminotransferases/deaminases, leading respectively to their deamination to  $\alpha$ -keto acids and further decarboxylation of the latter to aldehydes [15–16]. Deaminases and aminotransferases capable of de- and transamination of branched-chain amino acids were found in the dairy *Lactobacillus plantarum*, *Lactocaseibacillus paracasei* and *Propionibacterium freudenreichii*. The breakdown of aromatic and branched amino acids leads to aromatic and branched aldehydes (benzaldehyde, phenylacetaldehyde, 3-methylbutanal, etc.), and further to branched volatile acids and/or alcohols (3-methylbutanoic acid, isoamyl alcohols, etc.). Under the action of dehydrogenases from *Lactobacillus casei*, proteolytic oxidative breakdown of tryptophan yields the heterocyclic compounds such as faintly odorous indole and very potent 2-methylindole, while phenol and its derivatives are formed from tyrosine

and phenylalanine [17,18]. Methionine and cysteine (to a lesser extent) are precursors for sulfur components like methional, dimethyl disulfide, dimethyl trisulfide [19] mainly as a result of metabolism by lactic acid bacteria.

In addition to lipids and proteins, lactose is another major component of milk for cheese flavor formation [20]. Lactose, lactates and citrates contribute to the formation of diacetyl, acetoin, ethanol, propanols, acetic, propionic and butyric acids. The role of ethanol itself in cheese flavor formation is insignificant, but it is a source of ethyl esters, the importance of which in cheese ripening cannot be overestimated. In some cases, ethanol is even added to cheese to increase the production of ethyl esters to improve flavor [21].

In conclusion, the planned studies using gas chromatography-mass spectrometry will make it possible to develop an auxiliary analytical procedure for the first time for Ossetian cheese. In the future, this will help, ultimately, to create an optimal bacterial-yeast starter complex capable of forming the most preferred metabolic products in cheese that will positively affect the physicochemical and consumer qualities of the final product.

## 2. Objects and methods

Nine samples of Ossetian cheese of different origin, maturity, age, and aroma were selected (Figure 1) for the study in order to cover the maximum possible area of organoleptic variations of this cheese type. In particular, commercial pasteurized cheeses of different degrees of maturity (Delikat, Nash, Fiagdon1) and domestic varieties were used: young (1–2 months) cheeses (Kobi2), mature (4–6 months) cheeses (Tib, Kobi1, Fiagdon2), and overripened (12–18 months) cheeses (Dargavs1, Dargavs2). The age was declared by the manufacturers. Fiagdon, Tib, Kobi and Dargavs refer to the geographical localization of the place of manufacture.

Cheese samples were taken in duplicate by cutting 100 g of a sample from the center to the outer part. The cheese samples were stored in a refrigerator at 5 °C until they were needed for analysis, but no longer than 3 days.

For the extraction of cheese volatiles, a sample of 100 g of shredded cheese was suspended with a blender (Stegler LB-2, Stegler Laboratory Instrumentation, USA) in 600 mL of water and steam distilled under reduced pressure (80–100 mbar) in an oil bath heated to 80–85 °C in order to keep the temperature of distillation at 40–50 °C as detailed earlier [22]. The resulting 200 ml of distillate was extracted with 2x20 ml of dichloromethane (Komponent-Reaktiv, pure for spectroscopy grade). To quantify the volatiles, dodecane was used as an internal standard and added to the solvent. Dodecane was not detected in the samples and was well separated from other cheese volatiles. After cooling to room temperature, the combined dichloromethane fractions were concentrated to a final volume of 0.5 mL on a rotary evaporator (Heidolph Hei-VAP Precision, Heidolph Instruments, Germany).

At the inlet of a gas chromatograph (Thermo Trace 1300, Thermo Fischer Scientific, USA) coupled to a mass spectrometer (ISQ MSD, Thermo Fisher Scientific, USA), 5  $\mu$ L of a cheese extract was injected. The GC system was equipped with a TR-5MS capillary column (95% dimethylpolysiloxane, 5% phenylpolysilphenylphenylsiloxane, L 30 m x I.D. film thickness 0.25 mm x 0.25 mm; Thermo Fisher Scientific). Helium was used as a carrier gas at a flow rate of 1 mL/min. The column temperature was maintained at 30 °C for 15 min, then programmed at a rate of 10 °C/min to increase to 150 °C, which was maintained for 20 min. A split ratio of 1/10 was used and the injector and the ISQ MSD detector were maintained at 250 °C and 280 °C, respectively. The mass spectra were obtained by electron impact of 70 eV and the total ion current (TIC) chromatograms were recorded by monitoring the TIC in a scan range of 50–400 amu (atomic mass units). A solvent delay of 6.0 min was used to avoid excessive solvent disturbing the MS source. Identification of the cheese volatiles was made by comparing the mass spectra of the different volatiles with the mass spectra of a commercial Mass Spectral Library, Wiley275 (Wiley, Somerset). Semi-quantitative data of the isolated aroma compounds were calculated by relating the peak area of the cheese volatile to the peak area of dodecane. It was assumed that the volatile compounds have the same response factor to that of the internal standard. Quantitative results were obtained by calculating the average of three cheese sample analyses. Coefficients of variation (CoVs) were calculated by repeating the steam-distillation-extraction procedures with subsequent analysis of Kobi1 cheese in order to determine the repeatability of the analysis. The CoVs of most peaks were lower than 10% and never exceeded 15%, which was considered to be a satisfactory result for this type of analysis.

The concentrations of the volatiles were expressed as ng/g<sup>-1</sup> of cheese. A representative GC/MS spectrum of Tib cheese is shown in Figure 2.

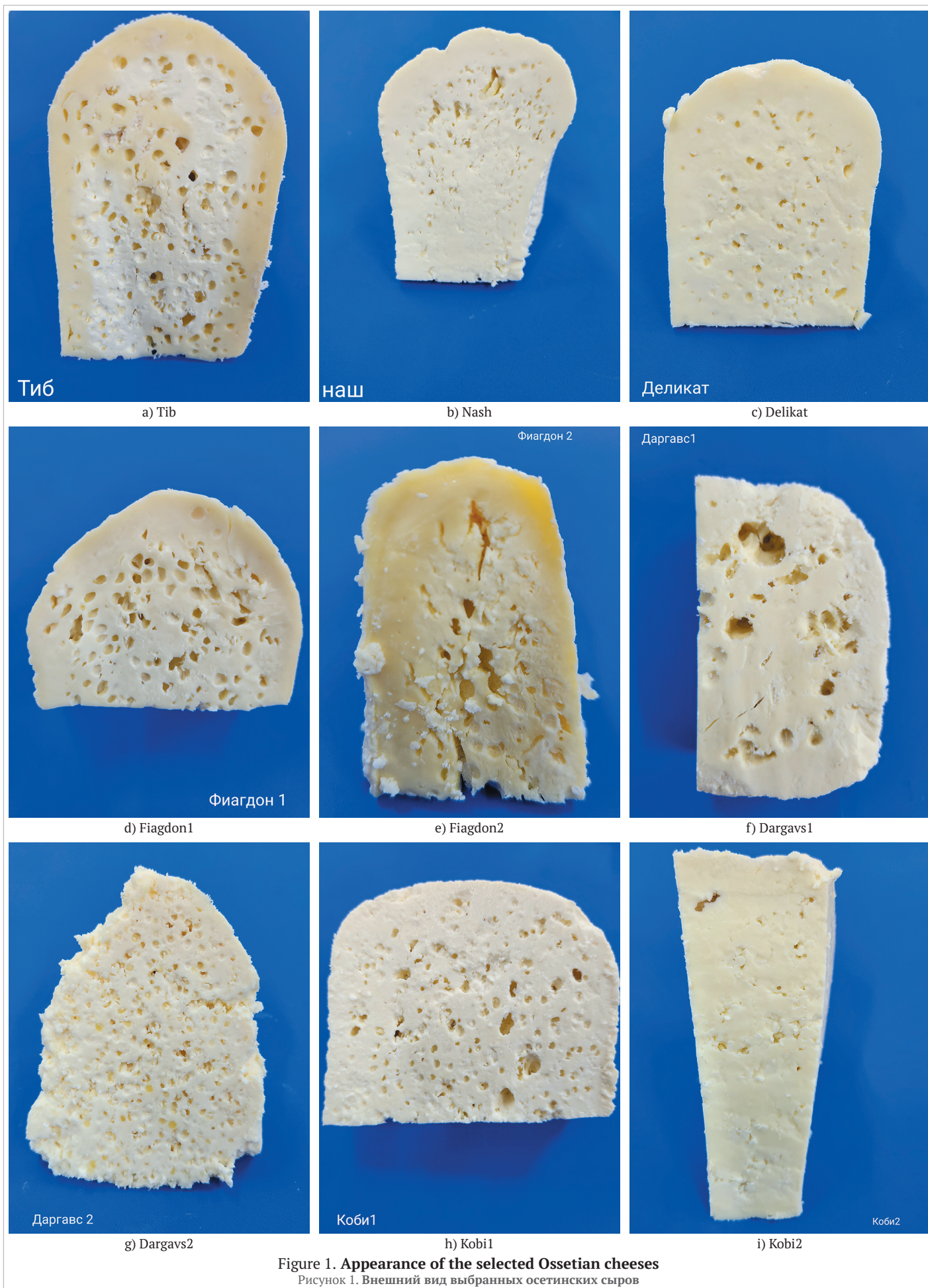
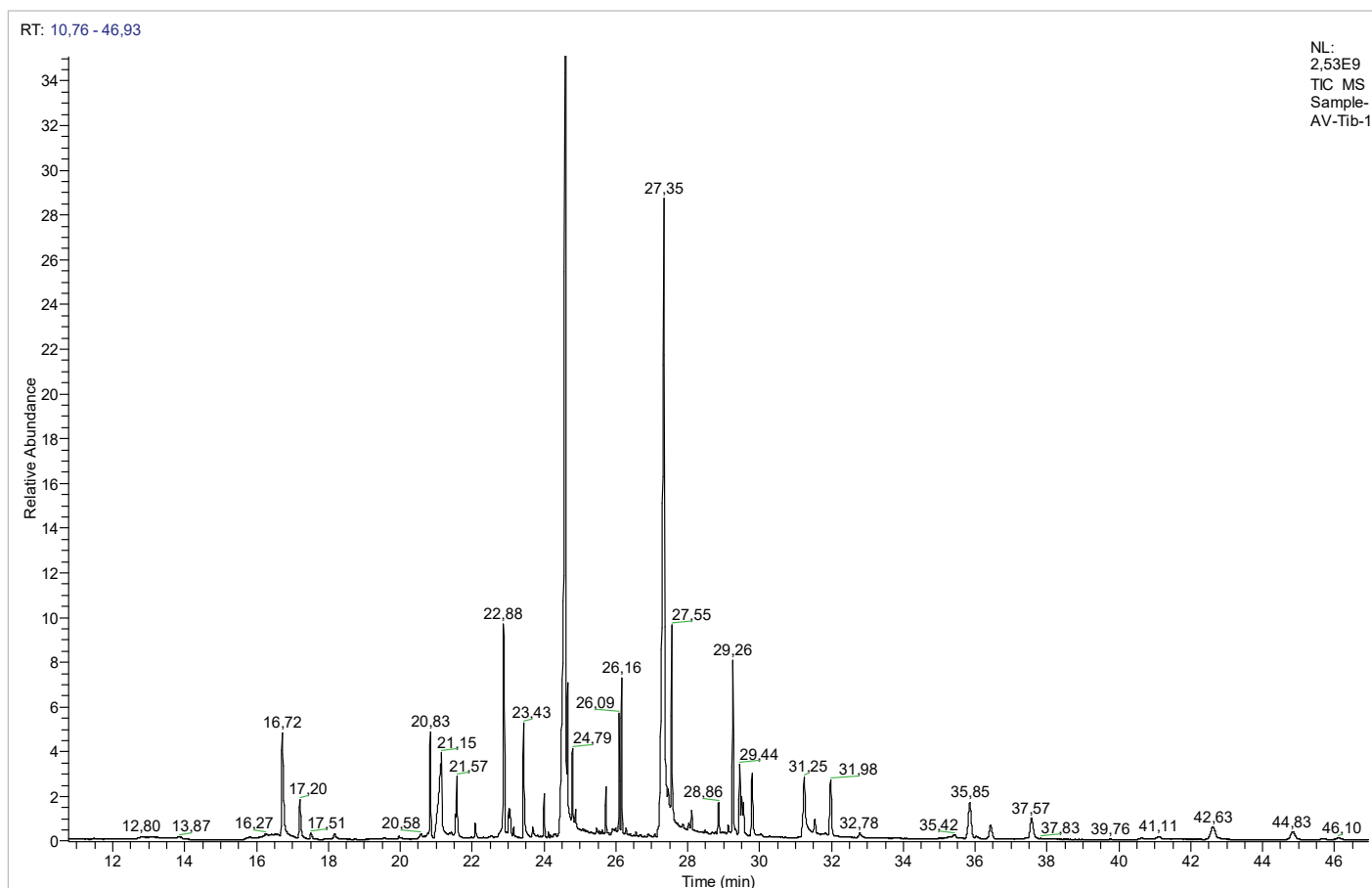


Figure 1. Appearance of the selected Ossetian cheeses  
Рисунок 1. Внешний вид выбранных осетинских сыров



NL:  
2.53E9  
TIC MS  
Sample-  
AV-Tib-1

Figure 2. GC/MS spectrum of Tib cheese. Major components: 2-heptanone (16.72), propyl butanoate (17.20), ethyl hexanoate (20.83), hexanoic acid (21.15), 2-ethylhexane-1-ol (21.57), phenylacetaldehyde (22.08), 2-nonanone (22.88), phenethyl alcohol (23.43), dodecane (24.6), propyl octanoate (26.1), 2-undecanone (26.17), decanoic acid (27.35), ethyl decanoate (27.55), propyl decanoate (29.26), 2-tridecanone (29.44), dodecanoic acid (31.25), ethyl dodecanoate (31.98), propyl dodecanoate (35.85), 6-heptyl-tetrahydropyran-2-one (37.57), ethyl tetradecanoate (42.63)

Рисунок 2. Спектры ГХ/МС сыра Тиб. Основные компоненты: 2-гептанон (16,72), пропилбутаноат (17,20), этилгексаноат (20,83), гексановая кислота (21,15), 2-этилгексан-1-ол (21,57), фенилацетальдегид (22,08), 2-нонанон (22,88), феноэтиловый спирт (23,43), додекан (24,6), пропилоктаноат (26,1), 2-ундеканон (26,17), декановая кислота (27,35), этилдеканоат (27,55), пропилдеканоат (29,26), 2-тридеканон (29,44), додекановая кислота (31,25), этилдодеканат (31,98), пропилдодеканат (35,85), 6-гептил-тетрагидропиран-2-он (37,57), этилтетрадеканоат (42,63)

### 3. Results and discussion

Eight ketones were detected in the cheeses (Table 1). Ketones are common components of most milk products and can be biochemically reduced to secondary alcohols. Methyl ketones are formed from fatty acids by  $\beta$ -oxidation or from  $\beta$ -keto acids and are known primarily for contributing to the flavor of moldy cheeses. They have typical odors (fruity, floral, mushroom or musty notes) and a low perception threshold. The concentration of ketones is moderately dependent on the method of manufacture and age of cheese. Their lowest concentrations were found in young (Kobi2) and commercial pasteurized cheeses (Delikat, Nash, Fiagdon1). The highest concentrations of ketones were recorded in over-ripened cheese Dargavs2.

Six alcohols were identified in the cheeses (Table 2). Primary alcohols are formed by the reduction of aldehydes by alcoholdehydrogenases. They give fruity and nutty notes to the cheese, but their high content may also cause odor defects. Secondary alcohols are also formed by the enzymatic reduction of the corresponding methyl ketones. They have similar but heavier aromatic notes than the methyl ketones. Phenylethyl and benzyl alcohols are considered to be products of the enzymatic breakdown of phenylalanine, and isoamyl alcohol is formed proteolytically from leucine.

Also, eight fatty acids were identified in the cheeses (Table 3). Fatty acids are important odor components of all types of cheese. Long-chain fatty acids (> 12 carbon atoms) play a minor role in flavor formation because of their relatively high perception threshold. Short- and medium-chain fatty acids with an even number of carbon atoms (C4-C12) have a much lower perception threshold and characteristic notes (vinegar, sourness). In addition, free fatty acids serve as precursors to methyl ketones, alcohols, lactones and esters. On the other hand, high concentrations of free fatty acids can cause an unpleasant rancid odor as the cheese matures, e. g., Dargavs1 and Dargavs2.

The occurrence of the short-chain butyric acid in mature and partially overripened Kobi1 and Dargavs2 cheeses requires a special mention. It is not related to lipolysis but to the anaerobic metabolism of lactose by, for example, *Clostridium acetobutyricum* or other butyric acid bacteria to butyric acid, gaseous  $\text{CO}_2$  and  $\text{H}_2$ , and leads to a defect known as late gas blowing [23], which causes cracks in cheese during ripening and the development of an unpleasant rancid odor characteristic for butyric acid. The late gas blowing is a problem especially occurring in brine-salted cheeses because of the time required for NaCl to diffuse into cheese and to reach inhibitory concentrations.

Twenty-seven esters were detected in the cheeses (Table 4). The esters are common volatiles in cheese. Esterification reactions occur between short- and medium-chain fatty acids formed by lipolysis and alcohols. Most esters in cheeses are described as having sweet, fruity and floral notes. Some of them have a very low perceptual threshold and their contribution to odor is enhanced by synergistic effects. They can also contribute to the aroma of cheese, minimizing, for example, the harshness and bitterness imparted by fatty acids. The amount of esters, numerically and by mass, is most high in overripened Dargavs1 and Dargavs2 cheeses, and is mostly absent in young and pasteurized commercial cheeses (Delikat, Nash, Fiagdon1).

Eight aldehydes were identified in the cheeses (Table 5). Linear aldehydes can be formed by  $\beta$ -oxidation of unsaturated fatty acids or from amino acids by Strecker degradation. Benzaldehyde and phenylacetaldehyde are formed from the degradation of phenylalanine by both enzymatic and non-enzymatic pathways, such as Strecker degradation. It should be noted that methional aldehyde in Dargavs2 and Kobi2 cheeses is a product of deep proteolytic degradation of methionine, and the presence of furfural in Fiagdon1 and Fiagdon2 cheeses may be an indication of the pentosan-rich local corn diet of the animals. Aldehydes are transient compounds in cheese because they are rapidly reduced to primary

Table 1. Ketones / Таблица 1. Кетоны

Compound	Tib	Delikat	Nash	Kobi1	Dargavs1	Fiagdon1	Dargavs2	Fiagdon2	Kobi2
2-hexanone	—	—	—	—	—	—	29.2	—	—
2-heptanone	339.2	619.1	570.2	530.3	405.7	618.7	4444.4	639.3	175.4
2-octanone	2.4	7.7	—	—	—	—	87.7	6.4	—
2-nonanone	458.8	791.6	356.8	633.8	1736.8	834.9	8245.6	724.1	166.5
8-nonen-2-one	—	—	—	—	245	—	2149.1	33.7	45
2-undecanone	179.4	653.6	228.1	672.6	548.2	731.4	277.8	387.3	63.6
2-tridecanone	89.7	807	164.5	918.4	493.4	331	251.1	226.9	21.6
2-pentadecanone	74.2	762.9	80.6	569.2	208.3	206.8	142.3	316.2	16.5

Table 2. Alcohols / Таблица 2. Спирты

Compound	Tib	Delikat	Nash	Kobi1	Dargavs1	Fiagdon1	Dargavs2	Fiagdon2	Kobi2
2-heptanol	15.5	—	—	—	131.6	—	1155	245.2	28
2-nonanol	—	—	—	—	—	—	1052.6	247.5	—
phenethyl alcohol	176.3	168.7	311.2	698.5	892.1	676.9	160.8	5960.4	202.1
2-ethylhexane-1-ol	127.2	74.8	192.2	—	—	171.1	—	121.5	30.5
benzyl alcohol	—	—	—	—	—	—	131.5	—	—
iso-amyl alcohol	—	—	—	—	—	—	—	1251.2	32.2

Table 3. Fatty acids / Таблица 3. Жирные кислоты

Compound	Tib	Delikat	Nash	Kobi1	Dargavs1	Fiagdon1	Dargavs2	Fiagdon2	Kobi2
butanoic acid	—	—	—	1940.3	—	—	482.5	—	—
3-methylbutanoic acid	—	—	—	—	—	—	—	29.8	—
hexanoic acid	440.2	47.9	—	24939	25043.9	1086.9	11769	61.2	—
heptanoic acid	—	—	—	207	—	—	—	59.6	—
octanoic acid	2	—	—	49711	29561.4	129.7	31564.3	149	—
decanoic acid	2139	3737.8	—	26841	9638.2	2055.2	59502.9	646.2	—
dodecanoic acid	228.9	40.3	—	3078.6	767.5	24.4	4590.6	55	—
tetradecanoic acid	10.3	—	—	129	—	—	149.3	—	—

Table 4. Esters / Таблица 4. Сложные эфиры

Compound	Tib	Delikat	Nash	Kobi1	Dargavs1	Fiagdon1	Dargavs2	Fiagdon2	Kobi2
isoamyl acetate	—	—	—	—	—	—	63.9	61.9	—
ethyl butanoate	—	—	—	64.7	219.3	—	26.1	—	5.3
propyl butanoate	105.2	—	—	4.6	—	—	—	—	—
sec-butyl butanoate	—	—	—	—	—	—	87.7	—	—
pentyl butanoate	—	—	—	—	—	—	248.5	25.2	—
benzyl butanoate	—	—	—	—	—	—	117	—	—
ethyl hexanoate	146.4	—	—	349.3	4287.3	21	570.1	11.5	6.7
propyl hexanoate	29.4	—	—	—	—	—	—	—	—
isopropyl hexanoate	—	—	—	—	—	—	424	—	—
butyl hexanoate	—	—	—	—	106.6	—	102.3	—	—
isobutyl hexanoate	—	—	—	—	20	—	994.1	—	—
isoamyl hexanoate	—	—	—	—	953.4	—	687.1	—	5.3
ethyl octanoate	117.5	2.4	23.4	294.7	6688.6	—	1549.7	—	7.6
propyl octanoate	137.1	—	—	—	514.9	—	745.6	—	—
isopropyl octanoate	—	—	—	—	—	—	760.2	—	—
isobutyl octanoate	—	—	—	—	70.2	—	891.8	—	—
ethyl decanoate	281.4	—	11.7	1474.6	8662.3	—	—	—	28
propyl decanoate	335	—	—	62	164.5	—	1666.7	—	—
sec-amyl decanoate	—	—	—	—	132.9	—	1549.7	—	—
iso-amyl decanoate	—	—	—	—	563.4	—	409.4	—	—
ethyl dodecanoate	168	—	6.7	1241.8	7785.1	21	1271.9	26.5	14.7
propyl dodecanoate	175.3	—	—	—	458.3	—	293	—	—
i-Pr dodecanoate	—	—	—	—	—	—	599.4	—	—
ethyl tetradecanoate	104.1	—	—	983.1	7236.8	—	628.7	—	21.6
i-Pr tetradecanoate	—	—	—	—	—	—	248.5	—	—
phenethyl acetate	69.1	—	—	49.6	603.1	—	—	3380	10.1
phenethyl propionate	—	—	—	—	—	—	—	50.4	4.7

alcohols or oxidized to the corresponding acids. They are characterized by a grassy or hay-like aroma and can be very unpleasant if their concentration exceeds certain values. As discussed above, the concentration of aldehydes decreases as cheese matures due to their enzymatic reduction to alcohols or oxidation to carboxylic acids.

Four lactones were detected in the cheeses (Table 6). Lactones are associated with oxidative breakdown of lipids. The aromatic characteristics of lactones vary: oily, fruity, coconut. Lactones are initially present in the lipid fraction of milk and undergo a slow but complete breakdown as the cheese ages, as in the case of the overripened Dargavs2 cheese.

Also, three compounds that do not fit into any of the above groups, namely phenol, indole and skatole, were found in some samples (Table 7). All three are products of deep proteolytic breakdown of phenylalanine and tryptophan. Skatole (3-methylindole) is particularly known for its distinct fecal-rotten and musty odor. The highest concentrations of indoles are found in Cobi1 and especially Cobi2 cheeses and are decisive in their flavor.

In general, based on GC-MS data, it can be concluded that the ripening process of Ossetian cheeses is determined by metabolic accumulation of lipolysis products (especially Tib, Delikat, Dargavs1, Dargavs2) and proteolysis products (especially Kobi2). In some cases, both processes are present simultaneously (Cobi1, Fiagdon1, Fiagdon2). In one case (young commercial cheese Nash), only very small amounts of all metabolites were detected.

Volatiles found in Tib and Fiagdon2 cheeses exhibited reasonable similarities to white brined cheeses analyzed and described in the literature [24–26] both qualitatively and quantitatively, especially in regard to the most significant flavor forming substances from the class of carboxylic acids, esters, ketones and aldehydes. Unlike them, the cheeses Delikat, Nash, Kobi1, Kobi2, Dargavs1, Dargavs2, Fiagdon1 showed significant deviations in many ways when compared to the known brine-ripened cheeses.

#### 4. Conclusion

For the first time, volatile aromatic substances of nine homemade and commercial Ossetian cheeses have been analyzed. Aliphatic ketones, alcohols, fatty acids, esters, aldehydes, lactones and a number of heterocyclic compounds of indole and furan series were detected in the samples in different concentrations. This provides an evidence of the predominance of lipolytic and proteolytic processes during ripening of the studied cheeses. From the authors' point of view, the Tib cheese is the most compliant with the classical variant of Ossetian cheese. Overall, we were able to use the GS-MS method to document the qualitative and quantitative volatile profile of Ossetian cheese both for its classic version and for its local deviations from the standard, which can further serve as an objective analytical criterion for its production. In the future, the authors consider it necessary to study the ripening processes in dynamics.

Table 5. Aldehydes / Таблица 5. Альдегиды

Compound	Tib	Delikat	Nash	Kobi1	Dargavs1	Fiagdon1	Dargavs2	Fiagdon2	Kobi2
phenylacetaldehyde	24.7	14	38.3	138	—	246.3	—	34.4	30.5
nonanal	10.8	17.3	36.7	—	—	35.7	28.8	6.9	6.4
dodecanal	36.1	53.7	63.6	—	—	39.1	—	—	—
tetradecanal	18.6	82.4	—	65.9	—	35.6	—	52.7	—
octadecanal	61.9	180.2	—	159.4	595.2	138.9	—	229.2	22.1
benzaldehyde	27.5	—	—	55	—	112.8	—	9.2	—
methional	—	—	—	—	—	—	43.9	—	54.7
furfural	—	—	—	—	—	39.2	—	20.6	—

Table 6. Lactones / Таблица 6. Лактоны

Compound	Tib	Delikat	Nash	Kobi1	Dargavs1	Fiagdon1	Dargavs2	Fiagdon2	Kobi2
6-pentyl-tetrahydropyran-2-one	62.7	40.3	—	—	—	—	—	41.2	—
6-hexyl-tetrahydropyran-2-one	141.2	580.8	118.1	—	219.3	342.2	—	355.2	21.6
6-heptyl-tetrahydropyran-2-one	110.3	467.7	85.5	401	142.5	216.2	—	210.8	30.5
gamma-dodecalactone	—	34.5	—	—	—	584.8	—	—	—

Table 7. Other compounds / Таблица 7. Другие компоненты

Compound	Tib	Delikat	Nash	Kobi1	Dargavs1	Fiagdon1	Dargavs2	Fiagdon2	Kobi2
phenol	—	—	—	34.8	—	—	—	—	575.8
indole	—	—	—	711.4	—	327.2	—	55	4542.7
3-methylindole	—	—	—	—	—	—	—	—	8.9

## REFERENCES

- Kochetkova, T.V., Grabarnik, I.P., Klyukina, A.A., Zayulina, K.S., Gavirova, L.A., Shcherbakova, P.A. et al. (2023). The Bacterial microbiota of artisanal cheeses from the Northern Caucasus. *Fermentation*, 9(8), Article 719. <https://doi.org/10.3390/fermentation9080719>
- Poveda, J.M., Sánchez-Palomo, E., Pérez-Coello, M.S., Cabezas, L. (2008). Volatile composition, olfactometry profile and sensory evaluation of semi-hard Spanish goat cheeses. *Dairy Science and Technology*, 88, 355–367. <https://doi.org/10.1051/dst:2007021>
- Alewijn, M., Sliwinski, E.L., Wouters, J.T.M. (2005). Production of fat-derived (flavour) compounds during the ripening of Gouda cheese. *International Dairy Journal*, 15(6), 733–740. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2004.09.009>
- Van Leuven, I., Van Caelenberg, T., Dirinck, P. (2008). Aroma characterisation of Gouda-type cheeses. *International Dairy Journal*, 18(8), 790–800. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2008.01.001>
- Wang, J., Yang, Y.J., Xu, L.Y., Wang, B., Zhang, J.H., Li, B.Z. et al. (2021). Key aroma compounds identified in Cheddar cheese with different ripening times by aroma extract dilution analysis, odor activity value, aroma recombination, and omission. *Journal of Dairy Science*, 104(2), 1576–1590. <https://doi.org/10.3168/jds.2020-18757>
- Zheng, X., Shi, X., Wang, B. (2021). A review on the general cheese processing technology, flavor biochemical pathways and the influence of yeasts in cheese. *Frontiers in Microbiology*, 12, Article 703284. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.703284>
- Centeno, J.A., Carballo, J. (2023). Current advances in cheese microbiology. *Foods*, 12(13), Article 2577. <https://doi.org/10.3390/foods12132577>
- Thierry, A., Collins, Y.F., Mukdsi, M.C.A., McSweeney, P., Wilkinson, M.G., Spinnler, H.-E. (2017). Lipolysis and Metabolism of Fatty Acids in Cheese. Chapter in a book: *Cheese*. Academic Press, 2017. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-417012-4.00017-X>
- Collins, Y.F., McSweeney, P., Wilkinson, M.G. (2003). Lipolysis and free fatty acid catabolism in cheese: A review of current knowledge. *International Dairy Journal*, 13(11), 841–866. [https://doi.org/10.1016/S0958-6946\(03\)00109-2](https://doi.org/10.1016/S0958-6946(03)00109-2)
- Deeth, H.C. (2020). Lipase Action on Milk Fat. Chapter in a book: *Dairy Fat Products and Functionality*. Springer, 2020. [https://doi.org/10.1007/978-3-030-41661-4\\_2](https://doi.org/10.1007/978-3-030-41661-4_2)
- Macedo, A.C., Xavier, F. (2015). Milk Fat Hydrolysis. Chapter in a book: *Encyclopedia of Membranes*. Springer, 2015. [https://doi.org/10.1007/978-3-642-40872-4\\_387-7](https://doi.org/10.1007/978-3-642-40872-4_387-7)
- Arđó, Y., McSweeney, P., Magboul, A.A.A., Upadhyay, V.K., Fox, P.F. (2017). Biochemistry of Cheese Ripening: Proteolysis. Chapter in a book: *Cheese*. Academic Press, 2017. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-417012-4.00018-1>
- Fox, P.F. (1989). Proteolysis during cheese manufacture and ripening. *Journal of Dairy Science*, 72, 1379–1400. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(89\)79246-8](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(89)79246-8)
- Rangel, A.H.d.N., Bezerra, D.A.F.V.d.A., Sales, D.C., Araújo, E.d.O.M., Lucena, L.M.d., Porto, A.L.F. et al. (2023). An overview of the occurrence of bioactive peptides in different types of cheeses. *Foods*, 12(23), Article 4261. <https://doi.org/10.3390/foods12234261>
- Curtin, A.C., McSweeney, P.L.H. (2004). Catabolism of amino acids in cheese during ripening. *Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology*, 1, 435–454. [https://doi.org/10.1016/S1874-558X\(04\)80077-0](https://doi.org/10.1016/S1874-558X(04)80077-0)
- Yvon, M., Rijnen, L. (2001). Cheese flavour formation by amino acid catabolism. *International Dairy Journal*, 11(4–7), 185–201. [https://doi.org/10.1016/S0958-6946\(01\)00049-8](https://doi.org/10.1016/S0958-6946(01)00049-8)

17. Kemmer, H., Dehnhard, M., Claus, R. (1997). Screening of indoles in cheese. *Zeitschrift für Lebensmitteluntersuchung und -Forschung A*, 205, 433–436. <https://doi.org/10.1007/s002170050194>
18. Broadbent, J.R., Gummalla, S., Hughes, J.E., Johnson, M.E., Rankin, S.A., Drake, M.A. (2004). Overexpression of *Lactobacillus casei* D-hydroxyisocaproic acid dehydrogenase in cheddar cheese. *Applied and Environmental Microbiology*, 70(8), 4814–4820. <https://doi.org/10.1128/AEM.70.8.4814-4820.2004>
19. Weimer, B., Seefeldt, K., Dias, B. (1999). Sulfur metabolism in bacteria associated with cheese. *Antonie Van Leeuwenhoek*, 76, 247–261. <https://doi.org/10.1023/A:1002050625344>
20. Tekin, A., Hayaloglu, A.A. (2023). Understanding the mechanism of ripening biochemistry and flavour development in brine ripened cheeses. *International Dairy Journal*, 137, Article 105508. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2022.105508>
21. Thierry, A., Maillard, M.-B., Richoux, R., Lortal, S. (2006). Ethyl ester formation is enhanced by ethanol addition in mini swiss cheese with and without added propionibacteria. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54(18), 6819–6824. <https://doi.org/10.1021/jf060673m>
22. Lawrence, R.C. (1963). Formation of methyl ketones as artifacts during steam distillation of Cheddar cheese and butter-oil. *Journal of Dairy Research*, 30(2), 161–170. <https://doi.org/10.1017/S0022029900011341>
23. Kaya, H.I., Simsek, O., Akgunoglu, O. (2023). Diversity of *Clostridium* spp. causing late blowing in Kaşar cheese and their behaviour against various antimicrobials. *International Dairy Journal*, 139, Article 105560. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2022.105560>
24. Massouras, T., Zoidou, E., Baradaki, Z., Karela, M. (2023). Physicochemical, microbiological and sensory characteristics of white brined cheese ripened and preserved in large-capacity stainless steel tanks. *Foods*, 12(12), Article 2332. <https://doi.org/10.3390/foods12122332>
25. Plessas, S., Ganatsios, V., Mantzourani, I., Bosnea, L. (2021). White brined cheese production by incorporation of a traditional milk-cereal prebiotic matrix with a candidate probiotic bacterial strain. *Applied Sciences*, 11(13), Article 6182. <https://doi.org/10.3390/app11136182>
26. Hayaloglu, A.A., Bansal, N., McSweeney, P.L.H. (2012). Influence of brine immersion and vacuum packaging on the chemistry, biochemistry, and microstructure of Mihalic cheese made using sheep's milk during ripening. *Dairy Science and Technology*, 92, 671–689. <https://doi.org/10.1007/s13594-012-0083-4>

AUTHOR INFORMATION	СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ
<b>Affiliation</b>	<b>Принадлежность к организации</b>
<p><b>Andrey V. Gutnov</b>, Candidate of Chemical Sciences, Docent, Department of Chemistry and Biotechnology, North-Ossetian State University 44–46, Vatutina str., Vladikavkaz, North Ossetia — Alania, 362025, Russia Tel.: +7–903–483–73–49 E-mail: gutnov@mail.ru ORCID: <a href="https://orcid.org/0000-0002-4492-7639">https://orcid.org/0000-0002-4492-7639</a> * corresponding author</p> <p><b>Gennady S. Kachmazov</b>, Candidate of Veterinary Sciences, Docent, Department of Food Technology, North-Ossetian State University 44–46, Vatutina str., Vladikavkaz, North Ossetia — Alania, 362025, Russia Tel.: +7–918–829–90–99 E-mail: kgssogutfi@yandex.ru ORCID: <a href="https://orcid.org/0009-0007-2330-7485">https://orcid.org/0009-0007-2330-7485</a></p> <p><b>Petrakis N. Chalikidi</b>, Candidate of Chemical Sciences, Senior Researcher, Department of Chemistry and Biotechnology, North-Ossetian State University 44–46, Vatutina str., Vladikavkaz, North Ossetia — Alania, 362025, Russia Tel.: +7–918–709–29–81 E-mail: chalikidi@gmail.com ORCID: <a href="https://orcid.org/0000-0001-5283-6596">https://orcid.org/0000-0001-5283-6596</a></p> <p><b>Albina Y. Tuaeava</b>, Graduate Student, Laboratory of the Molecular Center of Yeast Genetics, Kurchatov Complex of NBICS-Nature-Like Technologies (KK NBICS-PT) Center for Genomic Research “Kurchatov Genomic Center”, National Research Center “Kurchatov Institute”, 1, Akademika Kurchatov Square, Moscow, 123098, Russia Tel.: +7–918–704–57–90 E-mail: tuaeva_97@bk.ru ORCID: <a href="https://orcid.org/0009-0007-2214-0935">https://orcid.org/0009-0007-2214-0935</a></p>	<p><b>Андрей В. Гутнов</b> — кандидат химических наук, доцент, кафедра химии и биотехнологии, Северо-Осетинский государственный университет 362025, Республика Северная Осетия — Алания, Владикавказ, Ватутина, 44–46 Тел.: +7–903–483–73–49 E-mail: gutnov@mail.ru ORCID: <a href="https://orcid.org/0000-0002-4492-7639">https://orcid.org/0000-0002-4492-7639</a> * автор для контактов</p> <p><b>Геннадий С. Качмазов</b> — кандидат ветеринарных наук, доцент, кафедра технологии пищевых продуктов, Северо-Осетинский государственный университет 362025, Республика Северная Осетия — Алания, Владикавказ, Ватутина, 44–46 Тел.: +7–918–829–90–99 E-mail: kgssogutfi@yandex.ru ORCID: <a href="https://orcid.org/0009-0007-2330-7485">https://orcid.org/0009-0007-2330-7485</a></p> <p><b>Петракис Н. Чаликиди</b> — кандидат химических наук, старший научный сотрудник, кафедра химии и биотехнологии, Северо-Осетинский государственный университет 362025, Республика Северная Осетия — Алания, Владикавказ, Ватутина, 44–46 E-mail: chalikidi@gmail.com ORCID: <a href="https://orcid.org/0000-0001-5283-6596">https://orcid.org/0000-0001-5283-6596</a></p> <p><b>Альбина Ю. Туаева</b> — аспирант, Лаборатория молекулярной генетики дрожжей, Центр геномных исследований «Курчатовский геномный центр» Курчатовского комплекса НБИКС — природоподобных технологий, Научно — исследовательский центр «Курчатовский институт» 123098, Москва, пл. Академика Курчатова, 1 Тел.: +7–918–704–57–90 E-mail: tuaeva_97@bk.ru ORCID: <a href="https://orcid.org/0009-0007-2214-0935">https://orcid.org/0009-0007-2214-0935</a></p>
<b>Contribution</b>	<b>Критерии авторства</b>
<p><b>Andrey V. Gutnov</b> performed laboratory work, analyzed data, wrote the text of the article. <b>Gennady S. Kachmazov</b> performed laboratory work, corrected the text of the article. <b>Petrakis N. Chalikidi</b> obtained GC–MS data. <b>Albina Y. Tuaeava</b> reviewed literature sources related to the study. The authors are equally related to the writing of the manuscript and are equally responsible for plagiary.</p>	<p><b>Гутнов Андрей Владимирович</b> выполнял лабораторную работу, анализировал данные, написал текст статьи. <b>Качмазов Геннадий Созырович</b> выполнял лабораторную работу, корректировал текст статьи. <b>Чаликиди Петракис Николаевич</b> получал данные GC–MS. <b>Альбина Юрьевна Туаева</b> провела обзор литературных источников по исследуемой проблеме. Авторы в равных долях имеют отношение к написанию рукописи и одинаково несут ответственность за плагиат.</p>
<b>Conflict of interest</b>	<b>Конфликт интересов</b>
The authors declare no conflict of interest.	Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

DOI: <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2024-7-1-22-30>



Поступила 27.07.2023

Поступила после рецензирования 26.01.2024

Принята в печать 31.01.2024

© Платова Р. А., Жиркова Е. В., Метленкин Д. А., Лысенкова А. А., Платов Ю. Т., Рассулов В. А., 2024

<https://www.fsjour.com/jour>

Научная статья

Open access

## ПРОГНОЗИРОВАНИЕ ТЕХНОЛОГИЧЕСКИХ СВОЙСТВ ПШЕНИЧНОЙ МУКИ СОЧЕТАНИЕМ МЕТОДОВ UV-VIS-NIR СПЕКТРОСКОПИИ И МНОГОМЕРНОГО АНАЛИЗА

Платова Р. А.<sup>1</sup>, Жиркова Е. В.<sup>1</sup>, Метленкин Д. А.<sup>1,\*</sup>, Лысенкова А. А.<sup>1</sup>, Платов Ю. Т.<sup>1</sup>, Рассулов В. А.<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Российский экономический университет им. Г. В. Плеханова, Москва, Россия

<sup>2</sup> Всероссийский научно-исследовательский институт минерального сырья им. Н. М. Федоровского, Москва, Россия

### КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: АННОТАЦИЯ

*пшеничная мука, технологические свойства муки, цвет, колориметрическая система L\*a\*b\*, UV-VIS-NIR спектроскопия, метод главных компонент, линейный дискриминантный анализ*

За последние десятилетия для идентификации и контроля состава пищевой продукции широко использовались методы оптической спектроскопии, не требующие сложной пробоподготовки. В настоящем исследовании проанализирована возможность применения UV-VIS-NIR спектроскопии в сочетании с многомерным анализом для градации пшеничной муки по группам, различающимся по технологическим свойствам. UV-VIS-NIR спектры содержат информацию о сочетании и интенсивности полос поглощения, приписываемых функциональным группам компонентов состава и определяющих технологические свойства пшеничной муки. Сформирована база данных UV-VIS-NIR спектров образцов пшеничной муки, различающихся по технологическим свойствам на три группы: первая группа — образцы пшеничной муки с хорошими хлебопекарными свойствами, вторая группа — с пониженными хлебопекарными свойствами, третья группа — с низкими хлебопекарными свойствами. По видимому диапазону UV-VIS-NIR спектра диффузного отражения произведен расчет координат цвета в колориметрической системе МКО L\*a\*b\*. Самое значительное различие в цветовых координатах образцов между группами обнаружено в координате b\*, что обусловлено различным содержанием красящих пигментов. База данных спектров использована для построения классификационной модели градации пшеничной муки на группы качества сочетанием методов главных компонент и линейного дискриминантного анализа (PCA-LDA). Достигнутые результаты указывают на то, что классификационная модель, построенная на обучающей выборке, способна различать спектры пшеничной муки по группам качества с точностью 96,49%. Эффективность модели проверена с использованием тестового набора спектров образцов пшеничной муки. Настоящее исследование подтверждает, что комбинация UV-VIS-NIR спектроскопии в сочетании с методом PCA-LDA обладает значительным потенциалом для определения группы качества пшеничной муки по технологическим свойствам.

**БЛАГОДАРНОСТИ:** Авторы выражают признательность сотрудникам ФГАНУ НИИ хлебопекарной промышленности Мартиросяну В. В и Черных В. Я. за предоставление данных о технологических свойствах пшеничной муки.

Received 27.07.2023

Accepted in revised 26.01.2024

Accepted for publication 30.01.2024

© Platova R. A., Zhirkova E. V., Metlenkin D. A., Lysenkova A. A., Platov Yu. T., Rassulov V. A., 2024

Available online at <https://www.fsjour.com/jour>

Original scientific article

Open access

## PREDICTION OF TECHNOLOGICAL PROPERTIES OF WHEAT FLOUR BY COMBINATION OF UV-VIS-NIR SPECTROSCOPY AND MULTIVARIATE ANALYSIS METHODS

Raisa A. Platova<sup>1</sup>, Elena V. Zhirkova<sup>1</sup>, Dmitrii A. Metlenkin<sup>1,\*</sup>, Anna A. Lysenkova<sup>1</sup>, Yuri T. Platov<sup>1</sup>, Viktor A. Rassulov<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Plekhanov Russian University of Economic, Moscow, Russia

<sup>2</sup> All-Russian Research Institute of Mineral Resources named after N. M. Fedorovsky, Moscow, Russia

### KEY WORDS:

*wheat flour, technological properties of flour, color, colorimetric system L\*a\*b\*, UV-VIS-NIR spectroscopy, principal component analysis, linear discriminant analysis*

### ABSTRACT

Over the last decades, optical spectroscopy methods that do not require complex sample preparation have been widely used to identify and control the composition of food products. In the present study, the possibility of using UV-VIS-NIR spectroscopy combined with multivariate analysis for grading wheat flour into groups differing in technological properties was analyzed. UV-VIS-NIR spectra contain information on the combination and intensity of absorption bands assigned to functional groups of the composition components and determining the technological properties of wheat flour. The database of UV-VIS-NIR spectra of wheat flour samples differing by technological properties was formed into three groups: the first group — wheat flour samples with good baking properties, the second group — with reduced baking properties, the third group — with low baking properties. The visible range of UV-VIS-NIR diffuse reflectance spectrum was used to calculate the color coordinates in the CIE colorimetric system L\*a\*b\*. The greatest difference among the groups in the color coordinates of the samples was found for the coordinate b\*, which is associated with the different content of coloring pigments. The spectra database was used to build a classification model for grading wheat flour into quality groups using a combination of principal component analysis and linear discriminant analysis (PCA-LDA) methods. The achieved results indicate that the classification model built on the training sample is able to distinguish wheat flour spectra by quality groups with an accuracy of 96.49%. The effectiveness of the model is verified using a test set of spectra of wheat flour samples. The present study confirms that the combination of UV-VIS-NIR spectroscopy in conjunction with the PCA-LDA method has significant potential for determining a quality group of wheat flour based on technological properties.

**ACKNOWLEDGEMENTS:** The authors are grateful to the researchers of the Scientific Research Institute for the Baking Industry Martirosyan V. V. and Chernykh V. Ya. for providing data on the technological properties of wheat flour.

ДЛЯ ЦИТИРОВАНИЯ: Платова, Р. А., Жиркова, Е. В., Метленкин, Д. А., Лысенкова, А. А., Платов, Ю. Т., Рассулов, В. А. (2024). Прогнозирование технологических свойств пшеничной муки сочетанием методов UV-VIS-NIR спектроскопии и многомерного анализа. *Пищевые системы*, 7(1), 22-30. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2024-7-1-22-30>

FOR CITATION: Platova, R. A., Zhirkova, E. V., Metlenkin, D. A., Lysenkova, A. A., Platov, Y. T., Rassulov, V. A. (2024). Prediction of technological properties of wheat flour by combination of UV-VIS-NIR spectroscopy and multivariate analysis methods. *Food Systems*, 7(1), 22-30. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2024-7-1-22-30>



## 1. Введение

В настоящее время растет спрос на высококачественную сельскохозяйственную продукцию, что требует проведения инспекционных процессов в цепочках поставок производителей и дистрибьюторов с целью обеспечения высокого качества продукции для потребителей [1]. Пшеничная мука широко используется для производства различных видов хлебобулочных, кондитерских и макаронных изделий.

Изучение хлебопекарных свойств пшеничной муки позволяет оперативно выявлять ее целевое назначение и в определенной степени прогнозировать качество хлебобулочных изделий. Хлебопекарные свойства пшеничной муки определяются следующими показателями: количество и свойства клейковины, число падения и «сила» муки. «Сила» муки — это способность муки образовывать тесто, обладающее после замеса и в ходе брожения и расстойки определенными структурно-механическими свойствами [2].

Существует ряд методов и приборов, с помощью которых изучают свойства пшеничной муки, в том числе и «силу» муки. Среди таких приборов выделяют Фаринограф (Brabender, Германия) и Альвеограф (Chopin, Франция). Для контроля показателей технологических свойств зерна и продуктов его переработки данными методами требуется много времени и большое количество химических реактивов; кроме того, возможность выявления этих показателей в режиме реального времени отсутствует [3].

В современных условиях на предприятиях необходимо устанавливать показатели технологических свойств, отвечающие за определение дальнейшего назначения пшеничной муки, на месте (*in situ*) и в режиме реального времени. Для реализации этой задачи применяют бесконтактные и неразрушающие методы контроля. Технологические характеристики объектов возможно изучать и анализировать без разрушающего воздействия с помощью таких технологий, как электронный глаз или компьютерное зрение [4]. Среди неразрушающих способов исследования сельскохозяйственной продукции все более актуальными становятся спектроскопические методы, включая UV-VIS-NIR спектроскопию [5].

Использование портативного UV-VIS-NIR спектрометра для анализа технологических характеристик и оценки качества сельскохозяйственной продукции ранее было рассмотрено в работах [6–8]. В настоящее время ближняя инфракрасная спектроскопия широко применяется для определения содержания белка, клейковины, влаги в составе зерна [9]. При этом данные зарегистрированных UV-VIS-NIR спектров возможно задействовать для расчета колориметрических показателей пищевых продуктов. Использование данных UV-VIS-NIR спектров для расчета координат цвета в колориметрических системах проанализировано в работе [10]. В исследованиях [10, 11] применен колориметрический анализ для оценки возможности использования данного метода при контроле качества муки из маниоки и пшеничной муки соответственно. В данной работе изучены цветовые характеристики образцов пшеничной муки, различающихся по технологическим свойствам, для градации образцов на группы качества.

UV-VIS-NIR спектры множества образцов пшеничной муки считаются многомерными данными, поэтому для их анализа используют многомерные методы. Основное назначение этих методов — построение классификационных и градуировочных моделей [12]. В работе [13] применяли методы многомерного анализа в сочетании с данными NIR-спектров для прогнозирования значений показателей свойств, полученных с помощью фаринографа и параметров экстенсиграфа. В настоящем исследовании предлагается другой

методический подход — не прогнозирование отдельных показателей технологических свойств сочетанием методов спектроскопии и многомерного анализа, а градация образцов пшеничной муки на группы по технологическим свойствам сочетанием методов спектроскопии и многомерного анализа. Эта гипотеза обусловлена тем, что в UV-VIS-NIR спектрах образцов пшеничной муки имеются полосы поглощения, соответствующие функциональным группам компонентов химического состава и различающиеся по интенсивности полос поглощения, что определяет, на наш взгляд, градацию образцов на группы по технологическим свойствам.

Применение портативных UV-VIS-NIR спектрометров и построение на их основе классификационных моделей методами многомерного анализа позволит существенно сократить время прогнозирования технологических свойств и определения группы качества. При непрерывном контроле на производстве выявление группы пшеничной муки по технологическим свойствам возможно в режиме реального времени, что является преимуществом в условиях непрерывного цикла производства продукта.

Целью работы является разработка методического подхода к градации образцов пшеничной муки на группы качества, различающиеся по технологическим свойствам, сочетанием методов UV-VIS-NIR спектроскопии и многомерного анализа.

## 2. Объекты и методы

В качестве объектов исследования выбраны 68 UV-VIS-NIR спектров пшеничной хлебопекарной муки высшего сорта, различающиеся по технологическим свойствам. В соответствии с методологией построения классификационной модели формируются две выборки: обучающая, необходимая для построения калибровочной модели, и тестовая — для верификации модели [14]. В нашем исследовании в обучающую выборку из 68 спектров включены 62 спектра, а в тестовую — 6 спектров.

Значения показателей технологических свойств образцов пшеничной муки, представленные в Таблице 1, были получены в Центре реологии пищевых сред ФГАНУ НИИ хлебопекарной промышленности. Количество и качество клейковины определяли по ГОСТ 27839–2013<sup>1</sup> на приборе ИДК-3М, а число падения — по ГОСТ 27676–88<sup>2</sup> на приборе ПЧП-5. Значения показателей реологических свойств образцов пшеничной муки выявлялись в соответствии с ГОСТ ISO 5530–1–2013<sup>3</sup> на фаринографе Farinograph (фирма Brabender, Германия). Методика и технология определения технологических свойств будет представлена в отдельном исследовании.

Методами многомерного анализа [8] проведена процедура градации образцов пшеничной хлебопекарной муки, а также формирования групп качества по показателям технологических свойств. В результате выделены три группы: первая группа — образцы пшеничной муки с хорошими хлебопекарными свойствами, вторая группа — с пониженными хлебопекарными свойствами, третья группа — с низкими хлебопекарными свойствами. Средние значения технологических показателей образцов исследования представлены в Таблице 1.

<sup>1</sup> ГОСТ 27839–2013 «Мука пшеничная. Методы определения количества и качества клейковины». — Москва.: Стандартинформ, 2023. — 22 с.

<sup>2</sup> ГОСТ 27676–88 «Зерно и продукты его переработки. Метод определения числа падения». — Москва.: Стандартинформ, 2023. — 5 с.

<sup>3</sup> ГОСТ ISO 5530–1–2013 «Мука пшеничная. Физические характеристики теста. Часть 1. Определение водопоглощения и реологических свойств с применением фаринографа». — Минск.: Стандартинформ, 2016. — 16 с.

Таблица 1. Средние значения технологических показателей пшеничной муки по трем группам качества с учетом стандартной ошибки выборки средств

Table 1. Mean values of technological indicators of wheat flour by three quality groups with account for the standard error

Номера спектров образцов пшеничной муки	группа 1	группа 2	группа 3
	37–42, 49, 50, 53–56, 65, 66	35, 36, 45–48, 51, 52, 59–62, 67, 68	1–34, 43, 44, 57, 58, 63, 64
Показатели	Средние значения по группам		
«Число падения» (ЧП), с	365 ± 13,89	300 ± 15,61	355 ± 11,37
Количество клейковины (Гкл), %	28,7 ± 0,18	28,0 ± 0,42	26 ± 0,39
Качество клейковины, ед. ИДК	62 ± 3,10	62 ± 3,61	51 ± 2,61
Водопоглощение муки (V) на 500 ЕФ, %	58 ± 0,20	61 ± 1,24	59 ± 0,51
Время образования теста (а), мин	7,2 ± 2,15	5,1 ± 0,99	2 ± 0,21
Устойчивость теста (b), мин	17,9 ± 0,43	11,6 ± 0,94	9 ± 1,24
Разжижение теста через 10 минут после начала тестирования (d1)	8 ± 4,61	49 ± 3,92	51 ± 3,92
Разжижение теста через 12 минут после времени развития (d2)	8 ± 2,67	24 ± 3,37	43 ± 3,73
Число качества, ЧК	194 ± 3,31	106 ± 6,60	53 ± 1,32

Измерение UV-VIS-NIR спектров диффузного отражения проведено на портативном спектрометре ASD TerraSpec® 4 Hi-Res в диапазоне 350–2500 нм. Этот портативный прибор имеет массу 5,44 кг. Спектральное разрешение прибора в диапазоне до 1000 нм составляет 3 нм и 6 нм — в диапазоне от 1000 до 2500 нм. Апертура исследуемого участка — 12 мм. В качестве источника света используется галогенная лампа (# 8106–002, Welch Allyn, США). Управление спектрометром проводится с помощью программы RS<sup>3</sup> (ASD Inc., США), установленной на портативном компьютере — ноутбуке ThinkPad X201 (Lenovo, Китай). Использование портативного спектрометра имеет ряд преимуществ: измерение диффузного отражения можно проводить *in situ*, без пробоподготовки; при измерении спектров применяется проба большого объема и массы, что повышает достоверность и репрезентативность результатов; сочетание видимого (VIS) и ближнего инфракрасного (NIR) диапазонов позволяет, с одной стороны, определить по VIS-диапазону цветовые характеристики и центры окраски природных пигментов, с другой — идентифицировать по NIR-диапазону функциональные группы компонентов химического состава пшеничной муки.

По видимому диапазону UV-VIS-NIR спектра диффузного отражения произведен расчет (при соблюдении следующих стандартных условий: измерение/наблюдение  $d/8^\circ$  при источнике света  $D_{65}$  и колориметрическом наблюдателе  $10^\circ$ ) координат цвета в колориметрической системе МКО  $L^*a^*b^*$ :  $L^*$  — светлота;  $+a^*$  — красный,  $-a^*$  — зеленый;  $+b^*$  — желтый,  $-b^*$  — синий.  $C$  — насыщенность цвета,  $H$  — цветовой тон [15].

Для применения многомерных методов проводили предварительную обработку UV-VIS-NIR спектров диффузного отражения в программном пакете Unscrambler (ver. 10.0.4, Camo Software, Норвегия). Предварительная обработка включала следующие этапы: коррекция мультипликативного рассеяния (MSC), процедура сглаживания спектров методом сглаженной скользящей средней (Moving Average) и преобразование коэффициентов диффузного отражения ( $R$ ) в коэффициенты поглощения длин волн спектра по функции  $A = \log(1/R)$ . Профили UV-VIS-NIR спектров поглощения образцов пшеничной муки после предварительной обработки представлены на Рисунке 1.

Для разработки классификационной модели градации образцов пшеничной муки на группы качества использованы следующие методы классификации в программном пакете Unscrambler (ver. 10.0.4, Camo Software, Норвегия):

- метод главных компонент (МГК): алгоритм — NIPALS (нелинейное итерационное проектирование при помощи чередующих наименьших квадратов), метод проверки — полная перекрестная кросс-валидация;
- сочетание метода главных компонент и линейного дискриминантного анализа (PCA-LDA).

### 3. Результаты и обсуждение

Анализ UV-VIS-NIR спектров образцов пшеничной муки выполнен в несколько этапов:

- по видимому диапазону (380–750 нм) спектра произведен расчет координат цвета в колориметрической системе МКО  $L^*a^*b^*$  для образцов пшеничной муки из трех групп, различающихся по технологическим свойствам;
- по UV-VIS-NIR спектру выявлен перечень полос поглощения, приписываемых функциональным группам компонентов состава пшеничной муки, и методом главных компонент определены полосы поглощения, вносящие наибольший вклад в градацию образцов на группы;
- методом дискриминантного анализа построены классификационные модели градации образцов пшеничной муки на группы, различающиеся по технологическим свойствам, и проведена верификация одной из моделей по тестовой выборке образцов.

#### 3.1. Цветовые характеристики пшеничной муки

Содержание и структура белка (качество клейковины), а также цвет пшеничной муки — наиболее ценные показатели свойств для пищевой промышленности и для гарантии качества конечных продуктов [16]. Матрица значений координат цвета  $L^*a^*b^*$  образцов пшеничной муки обработана методом главных компонент. Две главные компоненты объясняют 99,9% по общей дисперсии (71% и 29% соответственно). По 1 ГК максимальное значение факторной нагрузки, равное 0,96, имеет координата светлоты  $L^*$ , а наибольший показатель по 2 ГК, равный 0,96, присущ координате желтизны  $b^*$ . Координата красноты  $a^*$  имеет самые низкие значения факторных нагрузок по 1 и 2 ГК. Известно [17], что значение светлоты пшеничной муки определяется твердостью зерен и размером частиц пшеничной муки, а желтизна — содержанием природных пигментов.

Таблица 2. Координаты цвета образцов пшеничной муки по группам

Номер группы	Значение показателя	Координаты цвета				
		$L^*$	$a^*$	$b^*$	$C$	$H$
Группа 1	Максимум	96,1	0,77	12,78	12,8	87,8
	Минимум	92,4	0,41	9,59	9,4	86,3
	Среднее	94,5	0,52	11,07	11,1	87,3
Группа 2	Максимум	95,8	0,83	10,75	10,7	88,2
	Минимум	91,98	0,32	9,32	9,3	85,5
	Среднее	94,8	0,47	10,06	10,1	87,3
Группа 3	Максимум	96,2	0,53	11,06	11,1	88,1
	Минимум	90,5	0,33	8,48	8,5	86,6
	Среднее	94,6	0,45	9,66	9,7	87,3

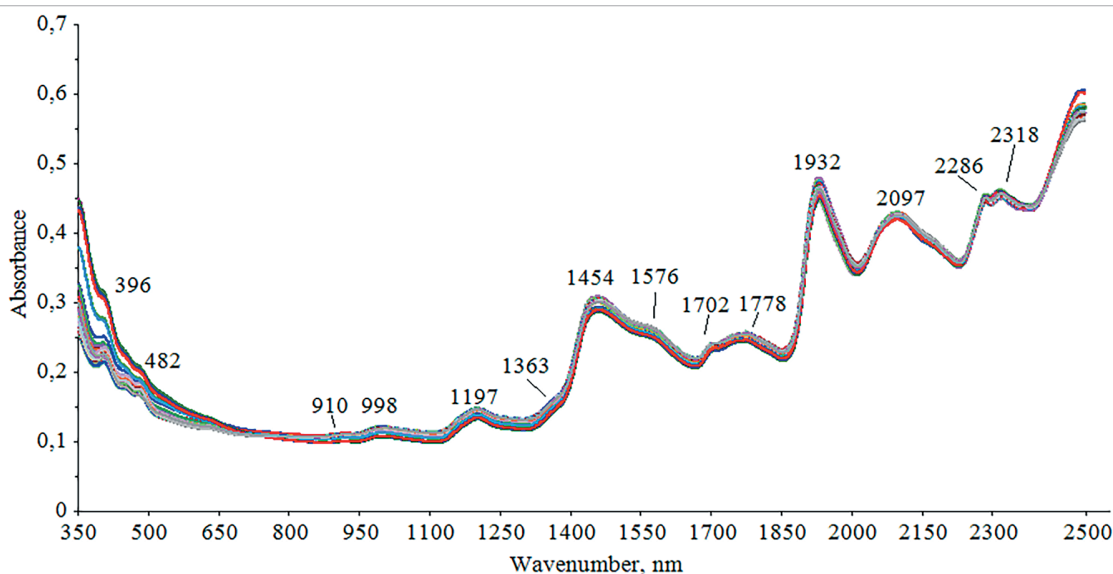


Рисунок 1. Профили UV-VIS-NIR спектров образцов пшеничной муки после предварительной обработки. Положение полос поглощения спектра, приписываемых функциональным группам компонент состава пшеничной муки. Подробнее — см. Таблицу 3

Figure 1. Profiles of UV-VIS-NIR spectra of the wheat flour samples after the preliminary treatment. The location of the absorption bands of the spectrum assigned to the functional groups of the composition components of wheat flour. See Table 3 for further details

В Таблице 2 представлены координаты цвета образцов из трех групп в колориметрической системе МКО  $L^*a^*b^*$ . По окраске образцы из трех групп, разделенные по технологическим свойствам, различаются следующим образом: по значению светлоты  $L^*$  и цветового тона  $H$  практически не различаются, по красноте  $a^*$  — очень слабо, а по желтизне  $b^*$  и насыщенности цвета  $S$  — слабо различимы.

Флавоноиды и красноватые флавоны, в основном присутствующие во внешнем слое зерна, как и каротиноиды, которые отвечают за цвет зерна, находятся в эндосперме [18]. Накопление каротиноидов в эндосперме, обладающих антиоксидантными свойствами, определяет желтый цвет зерна [19]. Согласно исследованиям взаимосвязи природных пигментов и окраски злаков и их продуктов, координата желтизны  $b^*$  взаимосвязана с содержанием природных пигментов — лютеина и бета-каротина [20]. Среди каротиноидов именно лютеин и бета-каротин являются основными компонентами, формирующими желтый оттенок зерна пшеницы. Если сравнить средние значения трех групп образцов по желтизне, то образцы первой группы желтее по сравнению с образцами второй и третьей групп (11,07 против 9,66–10,06). Можно предположить, что образцы из первой группы, обладающие среди трех групп лучшими хлебопекарными свойствами и имеющие незначительное превосходство по значениям координат желтизны  $b^*$ , следовательно, имеют в своем составе больше содержание красящих пигментов — лютеина и бета-каротина.

### 3.2. Построение классификационной модели образцов пшеничной муки по данным UV-VIS-NIR спектров методом главных компонент

По результатам измерения UV-VIS-NIR спектров пшеничной муки, различающейся по технологическим свойствам на три группы, построены две матрицы данных на обучающей ( $X_1$ ) и тестовой ( $X_2$ ) выборках:  $X_1$  размерностью  $62 \times 2151$  (62 — количество UV-VIS-NIR спектров, 2151 — отсчеты на длинах волн) и  $X_2$  размерностью  $6 \times 2151$  (6 — количество UV-VIS-NIR спектров, 2151 — отсчеты на длинах волн).

Методом главных компонент матрица  $X_1$  преобразована в произведение двух матриц:  $T$  — матрицу счетов (scores) координат спектров образцов и  $P$  — матрицу факторных нагрузок (loadings) длин волн спектра. Число столбцов в матрицах  $T$  и  $P$ , равно  $A$ , называют числом главных компонент (ГК). Из матрицы  $X_1$  выделены четыре главные компоненты ( $A = 4$ ), вклад которых в объяснимую дисперсию составляет 97,49% (69,58; 16,53; 8,98 и 2,40% соответственно).

Одной из задач исследовательского анализа данных является обнаружение выбросов и их удаление из обучающей выборки. На Рисунке 2 представлен график, на котором по оси абсцисс указаны значения статистики Hotelling's  $T^2$ , а по оси ординат — значение F-Residuals. Для всех спектров образцов, полученных при анализе методом главных компонент, статистика Hotelling's  $T^2$  описывает расстояние до модели, охватываемое главными компонентами, а также показывает критический предел, связанный со статистическим доверительным интервалом. Из данного Рисунка видно, что пять спектров образцов находятся за пределами критических значений статистики Hotelling's  $T^2$ . Это означает, что данные спектры образцов относятся к выбросам, в связи с чем они были удалены из обучающей выборки матрицы  $X_1$ . Для дальнейшего анализа при исключении пяти спектров из матрицы  $X_1$  использована матрица  $X_{11}$ .

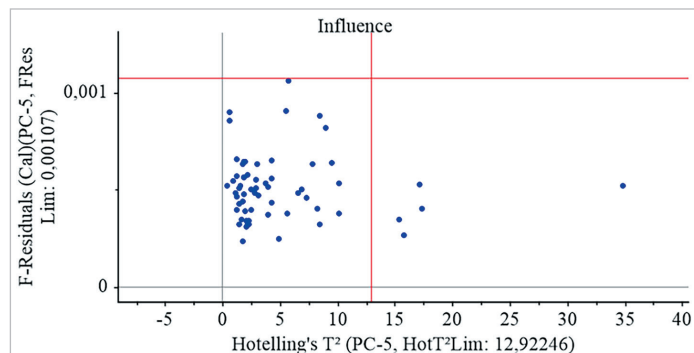


Рисунок 2. Расположение точек, соответствующее спектрам образцов, в координатах двух осей: значения статистики Hotelling's  $T^2$  и F-Residuals

Figure 2. Location of points corresponding to the spectra of the samples in coordinates of two axes: values of Hotelling's  $T^2$  and F-Residuals statistics

На Рисунках 3а и 3б представлено расположение точек, соответствующих спектрам образцов из разных групп, в координатах 1–2 ГК и 2–3 ГК соответственно. На Рисунках 4а–4г приведены значения факторных нагрузок длин волн спектра поглощения образцов для 1, 2, 3 и 4 ГК.

Таблица 3. Положение полос поглощения спектра, приписываемых функциональным группам компонентов состава пшеничной муки

Table 3. Location of absorption bands of the spectrum assigned to the functional groups of the composition components of wheat flour

Положение полосы, нм	Функциональная группа	Компонент	Источник
396	Валентные колебания O–H	Каротиноиды	[18,21,22]
482	Валентные колебания O–H	Каротиноиды	[23,24]
910	Изгиб связи O–H	Крахмал	[25]
998	Изгиб связи O–H	Крахмал	[25,26]
1197	Второй обертона $CH_2$ связи	Липиды	[27,28]
1363	Второй обертона и растяжение C–H связей	Липиды	[15]
1454	Первый обертона валентных колебаний O–H	Крахмал	[6,25,26]
1576	N–H и N–O связи	Белок	[29]
1702	Первый обертона C–H растягивающих колебаний метильной ( $-CH_3$ ), метиленовой ( $-CH_2$ ) и этениловой ( $-CH=CH-$ ) групп	Липиды	[30,31]
1778	Первый обертона деформационных колебаний C–H в жирных кислотах	Липиды	[30]
1932	Изгиб связи O–H	Вода	[26,32,33]
2097	Комбинация деформационных колебаний O–H и валентных колебаний C–O	Крахмал	[6,34]
2286	Валентные колебания C=O	Липиды	[31]
2318	Второй обертона деформационных колебаний C–H, деформационные колебания $CH_2$	Липиды	[6,31,34]

Интерпретация 1, 2, 3 и 4 ГК проведена по знаку (+/-) и по максимальному значению факторных нагрузок длин волн спектра, соответствующих функциональным группам компонентов состава пшеничной муки (Таблица 3).

По 1 ГК со знаком (+/-) факторные нагрузки спектра разделяются на два диапазона: со знаком (+) — видимая область, а со знаком (–) — ближняя инфракрасная область.

По 2 ГК со знаком (+) и по значению факторных нагрузок длин волн спектра выделяют функциональные группы, которые приписывают липидам (2286, 1702 нм), а также комбинации деформационных колебаний O–H и валентных колебаний C–O, что соответствует крахмалу (2097 нм). Относительно ГК со знаком (–), выделяются функциональные группы при значениях 1932, 1454 и 482 нм, которые соответствуют молекулярной воде, первому обертона валентных колебаний O–H и каротиноидам соответственно.

По 3 ГК со знаком (+) и по значению факторных нагрузок длин волн спектра выделяются функциональные группы при 1932, 910 и 998 нм, приписываемые молекулярной воде и изгибам OH-связей групп крахмала, а со знаком (–) — при 482, 1576 и 1778 нм, приписываемые каротиноидам, первому обертона растяжения N–H связей и липидам соответственно.

По 4 ГК со знаком (+) выделяются функциональные группы при 1702, 1778 и 1363 нм, которые приписывают липидам, а со знаком (–) — группы при значениях 482 и 2097 нм, которые относятся к каротиноидам и крахмалу соответственно.

Многомерная градиация образцов проведена по координатам образцов главных компонент. Образцы по 1 ГК разделяются на темные со знаком (+) и на более светлые со знаком (–). Действительно, если сравнить значения координат цвета образцов, имеющих знак (+) по 1 ГК (Таблица 4), со средними значениями координат цвета пшеничной муки трех групп (Таблица 1), то видно, что они имеют или более низкие значения светлоты ( $L^* < 94,7$ ), или более низкие значения желтизны ( $b^* < 10,7$ ).

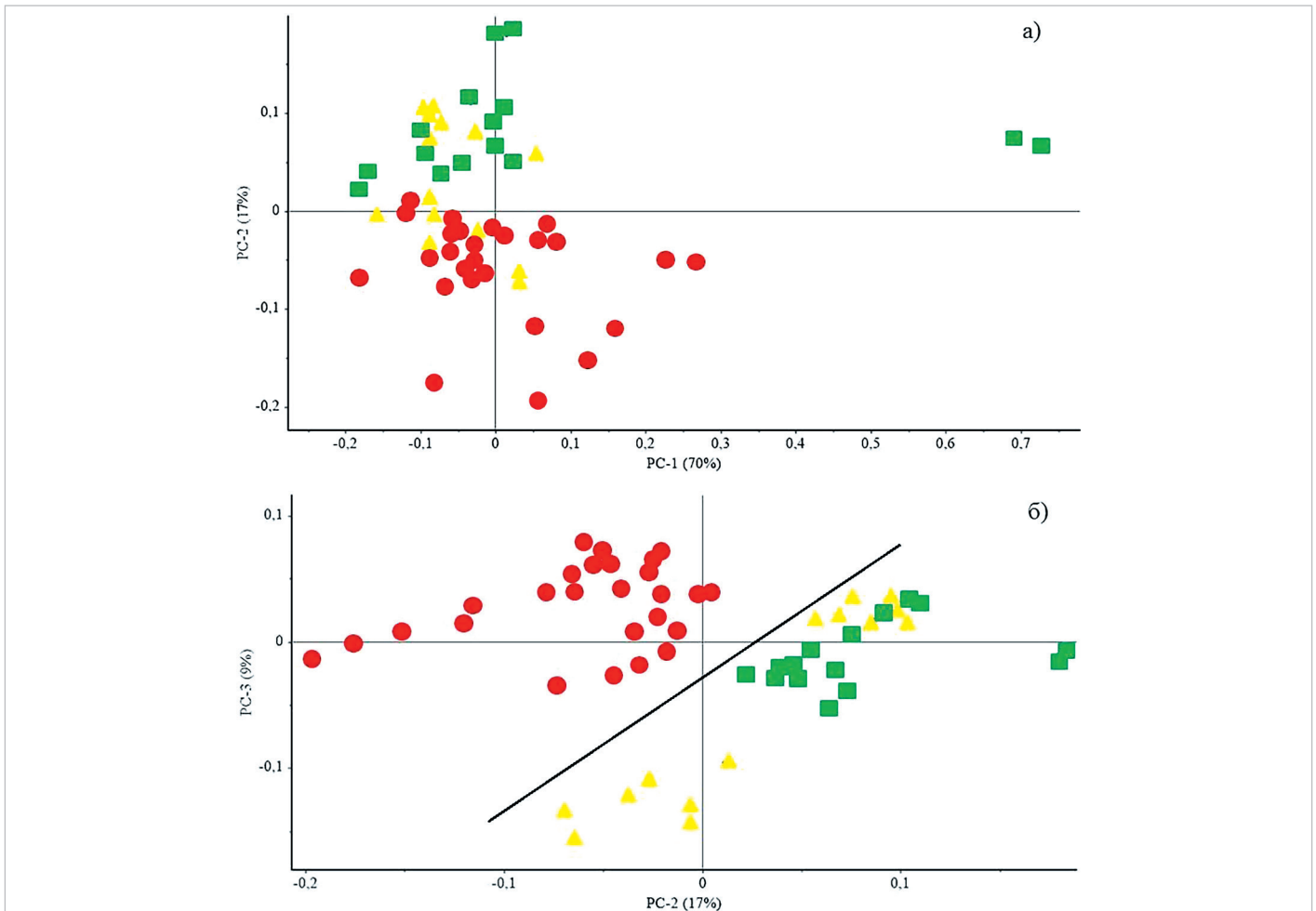


Рисунок 3. График расположения точек, соответствующих спектрам образцов пшеничной муки в координатах: а) первой и второй главных компонент; б) второй и третьей главных компонент. Группа 1 – желтый цвет ▲; группа 2 – зеленый цвет ■; группа 3 – красный цвет ●

Figure 3. Graph of location of points corresponding to the spectra of the wheat flour samples in coordinates: а) the first and second principal components; б) the second and third principal components. Group 1 – yellow ▲; group 2 – green ■; group 3 – red ●

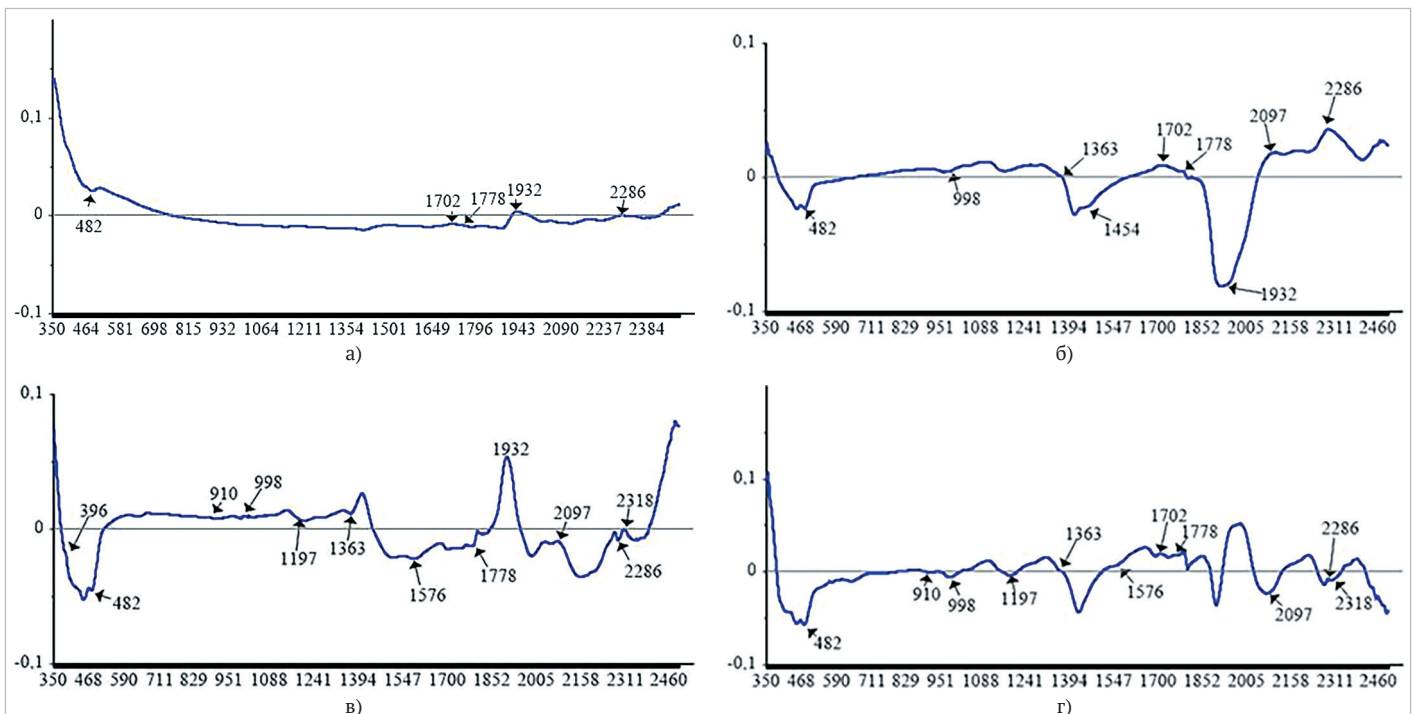


Рисунок 4. Факторные нагрузки длин волн спектра по четырем главным компонентам: а) по 1 ГК; б) по 2 ГК; в) по 3 ГК; г) по 4 ГК

Figure 4. Factor loadings of wavelengths of the spectrum by four principal components: а) by 1 PC; б) by 2 PC; в) by 3 PC; г) by 4 PC

Таблица 4. Цветовые характеристики образцов пшеничной муки, имеющие значения со знаком (+) по 1 ГК

Table 4. Color characteristics of the wheat flour samples having values with the plus sign (+) by 1 PC

Номер спектра образца	Номер группы	Координаты цвета				
		L*	a*	b*	C	H
51	2	91,9	0,83	10,50	10,5	85,5
52	2	92,7	0,83	10,64	10,7	85,5
11	3	93,9	0,53	9,18	9,2	86,7
12	3	93,6	0,53	9,23	9,2	86,7
5	3	91,2	0,48	8,48	8,5	86,8
6	3	91,5	0,51	8,80	8,8	86,6
7	3	90,5	0,45	9,95	9,9	87,4
10	3	92,8	0,43	9,25	9,3	87,3

Следовательно, 1 ГК вносит наибольший вклад в градацию образцов на группы (вклад, равный 69,58% от общей дисперсии), но при этом не вносит различие между группами по технологическим показателям. Согласно ее интерпретации по факторным нагрузкам коэффициента спектра поглощения, она необходима для градации образцов на светлые и более темные.

При рассмотрении расположения спектров образцов в координатах 2 и 3 ГК и при сравнении их расположения с интерпретацией ГК по максимальным значениям факторных нагрузок, можно выявить следующее:

- спектры образцов из третьей группы имеют значения координат со знаком (-) по 2 ГК, которая имеет максимальные значения факторных нагрузок полос при 1932, 1454 и 482 нм, приписываемых функциональным группам ОН молекулярной воды, первому обертону валентных колебаний ОН-крахмала и каротиноидам;
- спектры образцов из второй группы имеют координаты со знаком (+) по 2 ГК, которая имеет максимальные значения факторных нагрузок полос при 2286 и 2097 нм, приписываемых липидам, а также комбинации деформационных колебаний О-Н и валентных колебаний С-О, которые относятся к крахмалу;
- спектры образцов из первой группы расположены вдоль линии (Рисунок 3б), соединяющей спектры образцов со знаком (+) по

2 ГК и со знаком (-) по 3 ГК. Они, в свою очередь, имеют максимальные значения факторных нагрузок полос при 2286, 2097, 482 нм, приписываемых функциональным группам липидов, крахмала и каротиноидов.

Следовательно, ГК взаимосвязаны со значением функциональных групп компонентов состава пшеничной муки и хорошо разделяют образцы, предварительно классифицированные по технологическим свойствам на группы. Поэтому ГК использованы для построения классификационной модели градации образцов на группы методом PCA-LDA.

### 3.3. Построение классификационной модели градации образцов пшеничной муки на три группы, различающиеся по технологическим свойствам, по данным UV-VIS-NIR спектроскопии методом PCA-LDA

PCA — метод анализа данных без обучения, который используется для уменьшения размеров матрицы  $X_2$  с целью получения четырех ГК, объясняющих 97,49% от общей дисперсии. В качестве входных данных для алгоритма LDA использована матрица данных главных компонент (PCA). LDA — это метод анализа с обучением, поэтому для каждой строки матрицы PCA присвоен код — номер соответствующей группы качества. При построении классификационной модели методом PCA-LDA мы варьировали сочетание меры расстояния между группами — линейного (евклидово), квадраты евклидового расстояния и расстояние Махаланобиса — и количеством используемых ГК.

Линейный метод используется в случае, когда разница между двумя группами может быть представлена линейной функцией. Когда группы разделяются между собой кривой линией, эффективна мера расстояния — квадраты евклидового расстояния. Эта мера может работать лучше в ситуациях, когда различные классифицируемые группы имеют основную изменчивость в разных направлениях. Расстояние Махаланобиса является способом измерения расстояния наблюдения до центров групп, этот метод задействует эллипсы для определения расстояний [35].

Результаты моделирования представлены в Таблице 5, а визуальное представление расположения спектров образцов из трех групп в координатах двух дискриминантных функций LD1 и LD2 — на Рисунке 5.

В Таблице 6 представлена классификационная матрица данных по принадлежности образцов из обучающей выборки к одной из предполагаемых групп, полученных по классификационной модели

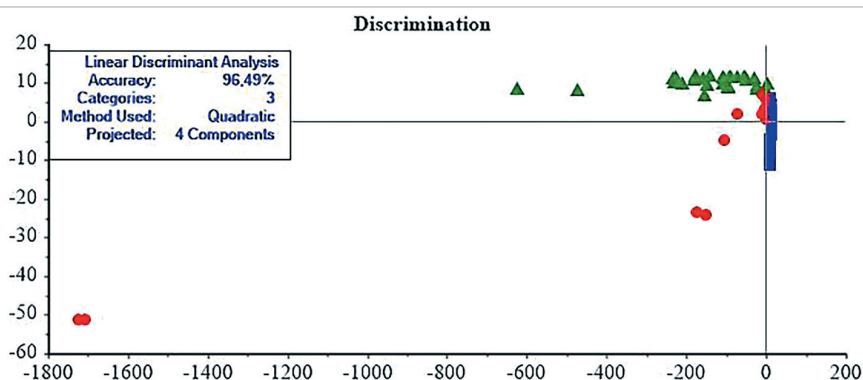


Рисунок 5. Результаты PCA-LDA. Расположение спектров образцов из трех групп в координатах двух дискриминантных функций LD1 и LD2: синие точки обозначают спектры образцов из 1 группы; красные — из 2 группы; зеленые — из 3 группы

Figure 5. Results of PCA-LDA. Location of the spectra of the samples from three groups in the coordinates of two discriminant functions LD1 and LD2: blue points denote spectra of the samples from the 1<sup>st</sup> group; red points — from the 2<sup>nd</sup> group; green points — from the 3<sup>rd</sup> group

Таблица 5. Точность классификационной модели (%) от использования при построении меры расстояния между группами и количество главных компонент

Table 5. Accuracy of the classification model (%) on using in building the measure of distance between groups and the number of principal components

Мера расстояния	Количество главных компонент	Точность, %
Линейное (евклидово)	3	78,95
Линейное (евклидово)	4	85,96
Квадраты евклидового расстояния	3	92,98
Квадраты евклидового расстояния	4	96,49*
Махаланобис	3	92,98
Махаланобис	4	92,98

\* Выделена модель с наибольшей точностью.

Таблица 6. Классификационная матрица определения принадлежности спектров образцов из обучающей выборки к одной из трех групп образцов пшеничной муки

Table 6. Classification matrix of determination of assignment of the spectrum samples from the training sample to one of three groups of the wheat flour samples

Исходная группа	Предполагаемая группа		
	1	2	3
1	14	2	0
2	0	13	0
3	0	0	28

Примечание: по диагонали Таблицы показано число правильно классифицированных образцов для каждой группы.

методом PCA-LDA при соблюдении следующих условий моделирования: мера расстояния между группами — квадраты евклидова расстояния; число ГК — 4. Наилучшие результаты показывает классификационная модель, построенная с использованием четырех главных компонент и мерой расстояния между группами — квадраты расстояний (Таблица 5). Точность предсказания в этом случае — 96,49%. Неточность классификационной модели объясняется слабым различием между первой и второй группами образцов пшеничной муки по технологическим свойствам: образцы из первой группы — с хорошими хлебопекарными свойствами, образцы из второй группы — с пониженными хлебопекарными свойствами.

Для валидации классификационной модели использована исходная матрица  $X_2$ , в которой представлены данные из тестовой выборки.

**Таблица 7. Прогнозирование по классификационной модели принадлежности спектров образцов из тестовой выборки к одной из групп качества пшеничной муки, различающихся по технологическим свойствам**

Table 7. Prediction by the classification model of the assignment of the samples from the test sample to one of the quality groups of wheat flour differed by technological properties

Номер спектра образца	Номер группы согласно технологическим свойствам	Номер группы, предсказанный моделью
2	3	3
9	3	3
22	3	3
46	2	2
59	2	2
66	1	1

В Таблице 7 показаны результаты прогнозирования по классификационной модели принадлежности спектров образцов из тестовой выборки к одной из групп качества пшеничной муки, различающихся по технологическим свойствам. Из Таблицы видно, что для всех образцов из тестовой выборки номер группы согласно технологическим

свойствам совпадает с номером группы, предсказанным моделью. Таким образом, предполагаемый метод позволяет достичь точности градации образцов на группы, превышающей 90%. Точность градации образцов на группы качества методом PCA-LDA, вероятно, улучшится, когда в существующую базу данных будет включен большой набор обучающих данных. В связи с этим предлагаемый способ определения спектров образцов к одной из групп качества пшеничной муки, различающихся по технологическим свойствам, может быть высокоэффективным для практического применения в пищевой промышленности.

#### 4. Выводы

Показан потенциал и преимущество использования UV-VIS-NIR спектроскопии для градации образцов пшеничной муки высшего сорта, различающейся по технологическим свойствам, по группам качества: первая группа — образцы пшеничной муки с хорошими хлебопекарными свойствами, вторая группа — с пониженными хлебопекарными свойствами, третья группа — с низкими хлебопекарными свойствами.

Применение портативного спектрометра позволяет проводить измерения UV-VIS-NIR спектров в диапазоне 350–2500 нм на месте и принимать решения о качестве пшеничной муки в режиме реального времени. Для анализа UV-VIS-NIR спектров и построения классификационной модели использованы методы многомерного анализа данных: метод главных компонент и линейный дискриминантный анализ (PCA-LDA).

По видимому диапазону (380–750 нм) спектра произведен расчет координат цвета пшеничной муки высшего сорта в колориметрической системе МКО  $L^*a^*b^*$ . Показано, что координаты  $L^*$  и  $b^*$  вносят наибольший вклад в различение образцов по цвету. При этом координата светлоты  $L^*$  не вносит вклад в различение образцов на группы качества по технологическим свойствам, а координата желтизны  $b^*$  значимо различает и, по-видимому, связана с большим содержанием каротиноидов.

Методом PCA-LDA построена классификационная модель градации образцов пшеничной муки на группы, различающиеся по технологическим свойствам, с точностью 96,49%, и проведена верификация модели по тестовой выборке спектров.

## БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

- Cortés, V., Blasco, J., Aleixos, N., Cubero, S., Talens, P. (2019). Monitoring strategies for quality control of agricultural products using visible and near-infrared spectroscopy: A review. *Trends in Food Science and Technology*, 85, 138–148. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2019.01.015>
- Сибирякина, Т. Ф., Мельникова, Е. В., Мордвинова, Н. М., Полубояринов, Н. А., Беляков, А. А. (2020). Прогнозирование силы муки яровой пшеницы, возделываемой в условиях лесостепи. *Эпоха науки*, 21, 49–60. <https://doi.org/10.24411/2409-3203-2020-11007>
- Porep, J. U., Kammerer, D. R., Carle, R. (2015). On-line application of near infrared (NIR) spectroscopy in food production. *Trends in Food Science and Technology*, 46(2(A)), 211–230. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2015.10.002>
- Galata, D. L., Meszaros, L. A., Ficzer, M., Vass, P., Nagy, B., Szabo, E. et al. (2021). Continuous blending monitored and feedback controlled by machine vision-based PAT tool. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 196, Article 113902. <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2021.113902>
- Radman, M., Jurina, T., Benković, M., Tušek, A. J., Valinger, D., Kljusurić, J. G. (2018). Application of NIR spectroscopy in gluten detection as a cross-contaminant in food. *Hrvatski Casopis za Prehrambenu Tehnologiju, Biotehnologiju i Nutricionizam*, 13(3–4), 120–127. <https://doi.org/10.31895/hcptbn.13.3-4.4>
- Platov, Y. T., Metlenkin, D. A., Platova, R. A., Rassulov, V. A., Vereshchagin, A. I., Marin, V. A. (2021). Buckwheat identification by combined UV-VIS-NIR spectroscopy and multivariate analysis. *Journal of Applied Spectroscopy*, 88, 723–750. <https://doi.org/10.1007/s10812-022-01315-7>
- de Brito, A. A., Campos, F., dos Reis Nascimento, A., Damiani, C., da Silva, F. A., de Almeida Teixeira, G. H. et al. (2022). Non-destructive determination of color, titratable acidity, and dry matter in intact tomatoes using a portable Vis-NIR spectrometer. *Journal of Food Composition and Analysis*, 107, Article 104288. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2021.104288>
- Pourdarbani, R., Sabzi, S., Kalantari, D., Karimzadeh, R., Ilbeygi, E., Arribas, J. I. (2020). Automatic non-destructive video estimation of maturation levels in Fuji apple (*Malus Malus pumila*) fruit in orchard based on colour (Vis) and spectral (NIR) data. *Biosystems Engineering*, 195, 136–151. <https://doi.org/10.1016/j.biosystemseng.2020.04.015>
- Menezes, C. M., da Costa, A. B., Renner, R. R., Bastos, L. F., Ferrão, M. F., Dressler, V. L. (2014). Direct determination of tannins in *Acacia mearnsii* bark using near-infrared spectroscopy. *Analytical Methods*, 6(20), 8299–8305. <https://doi.org/10.1039/C4AY01558D>
- de Matos, M. F. R., Bezerra, P. Q. M., Correia, L. C. A., Viola, D. N., de Oliveira Rios, A., Druzian, J. I. et al. (2021). Innovative methodological approach using CIELab and dye screening for chemometric classification and HPLC for the confirmation of dyes in cassava flour: A contribution to product quality control. *Food Chemistry*, 365, Article 130446. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.130446>
- Jeber, J. N., Hassan, R. F., Hammood, M. K., Al-Jeilawi, O. H. R. (2021). Sensitive and simple colorimetric methods for visual detection and quantitative determination of semicarbazide in flour products using colorimetric reagents. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 341, Article 130009. <https://doi.org/10.1016/j.snb.2021.130009>
- Rodionova, O. Ye., Pomerantsev, A. L. (2006). Chemometrics: Achievements and prospects. *Russian Chemical Reviews*, 75(4), 271–287. <https://doi.org/10.1070/RC2006v075n04ABEH003599>
- Prasadi, V. P. N., Joye, I. J. (2023). Effect of soluble dietary fibre from barley on the rheology, water mobility and baking quality of wheat flour dough. *Journal of Cereal Science*, 112, Article 103715. <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2023.103715>
- Парасич, А. В., Парасич, В. А., Парасич, И. В. (2021). Формирование обучающей выборки в задачах машинного обучения. Обзор. *Информационно-управляющие системы*, 4(113), 61–70. <https://doi.org/10.31799/1684-8855-2021-4-61-70>
- Aw, W. C., Ballard, J. W. O. (2019). Near-infrared spectroscopy for metabolite quantification and species identification. *Ecology and Evolution*, 9(3), 1336–1343. <https://doi.org/10.1002/ece3.4847>
- Шибяева, А. А., Мясникова, Е. Н. (2020). Факторы и стандарты, формирующие качество пшеничной муки. *Технологии пищевой и перерабатывающей промышленности АПК-продукты здорового питания*, 3, 72–77. <https://doi.org/10.24411/2311-6447-2020-10064>
- Horváth, Z. H., Véha, A. (2015). Colour characteristics of winter wheat grits of different grain size. *Acta Universitatis Sapientiae, Alimentaria*, 8(1), 70–77. <https://doi.org/10.1515/ausal-2015-0006>
- Мальчиков П. Н., Мясникова М. Г. (2020). Содержание желтых пигментов в зерне твердой пшеницы (*Triticum durum* Desf.): биосинтез, генетический контроль, маркерная селекция. *Вавиловский журнал генетики и селекции*. 24(5), 501–511. <https://doi.org/10.18699/VJ20.642>
- Lachman, J., Martinek, P., Kotikova, Z., Orsáka, M., Šulcaet, M. (2017). Genetics and chemistry of pigments in wheat grain — A review. *Journal of Cereal Science*, 74, 145–154. <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2017.02.007>
- Fратиани, А., Ирано, М., Панфили, Г., Аквиштуцци, Р. (2005). Estimation of Color of Durum Wheat. Comparison of WSB, HPLC, and Reflectance Colorimeter Measurements. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(7), 2373–2378. <https://doi.org/10.1021/jf040351n>
- Steinberg, T. S., Meleshkina, E. P., Shvedova, O. G., Morozova, O. V., Zhiltsova, N. S. (2020). Changes of the optical properties of top-grade flour (semolina) from durum wheat during its ripening. *Food Systems*, 3(2), 24–28. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2020-3-2-24-28>

22. Kolašinac, S. M., Dajić-Stevanović, Z. P., Kilibarda, S. N., Kostić, A. Ž. (2021). Carotenoids: New applications of “old” pigments. *Phyton-International Journal of Experimental Botany*, 90(4), 1041–1062. <https://doi.org/10.32604/phyton.2021.015996>
23. Шлыкова, А. Н., Балабаев, А. А., Трухина, Е. В., Базарнова, Ю. Г. (2020). Получение каротиноидных пигментов из микроводорослей *Chlorella*. Вестник ПНИПУ. Химическая технология и биотехнология, 3, 20–37. <https://doi.org/10.15593/2224-9400/2020.3.02>
24. Britton, G. (2020). Carotenoid research: History and new perspectives for chemistry in biological systems. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular and Cell Biology of Lipids*, 1865(11), Article 158699. <https://doi.org/10.1016/j.bbalip.2020.158699>
25. Dowell, F. E., Maghirang, E. B., Graybosch, R. A., Berzonsky, W. A., Delwiche, S. R. (2009). Selecting and sorting waxy wheat kernels using near-infrared spectroscopy. *Cereal Chemistry*, 86(3), 251–255. <https://doi.org/10.1094/CCHEM-86-3-0251>
26. Joe, A. A. F., Gopal, A. (April 20–21, 2017). *Identification of spectral regions of the key components in the near infrared spectrum of wheat grain*. International Conference on Circuit, Power and Computing Technologies (ICCPCT). IEEE, Kollam. <https://doi.org/10.1109/ICCPCT.2017.8074207>
27. Hoffman, L. C., Ni, D., Dayananda, B., Abdul Ghafar, N., Cozzolino, D. (2022). Unscrambling the provenance of eggs by combining chemometrics and near-infrared reflectance spectroscopy. *Sensors*, 22(13), Article 4988. <https://doi.org/10.3390/s22134988>
28. Wang, P., Ma, T., Slipchenko, M. N., Liang, S., Hui, J., Shung, K. K. et al. (2014). High-speed intravascular photoacoustic imaging of lipid-laden atherosclerotic plaque enabled by a 2-kHz barium nitrite Raman laser. *Scientific Reports*, 4(1), Article 6889. <https://doi.org/10.1038/srep06889>
29. Puertas, G., Cazón, P., Vázquez, M. (2023). Application of UV-VIS-NIR spectroscopy in membrane separation processes for fast quantitative compositional analysis: A case study of egg products. *LWT*, 174, Article 114429. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2023.114429>
30. Monago-Maraña, O., Eskildsen, C. E., Galeano-Díaz, T., de la Peña, A. M., Wold, J. P. (2021). Untargeted classification for paprika powder authentication using visible–Near infrared spectroscopy (VIS-NIRS). *Food Control*, 121, Article 107564. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2020.107564>
31. Núñez-Sánchez, N., Martínez-Marín, A. L., Polvillo, O., Fernández-Cabanás, V. M., Carrizosa, J., Urrutia, B. et al. (2016). Near Infrared Spectroscopy (NIRS) for the determination of the milk fat fatty acid profile of goats. *Food Chemistry*, 190, 244–252. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.05.083>
32. Uysal, R. S., Acar-Soykut, E., Boyaci, I. H. (2020). Determination of yolk: White ratio of egg using SDS-PAGE. *Food Science and Biotechnology*, 29, 179–186. <https://doi.org/10.1007/s10068-019-00650-4>
33. Wilson, R. N., Nadeau, K. P., Jaworski, F. B., Tromberg, B. J., Durkina, A. J. (2015). Review of short-wave infrared spectroscopy and imaging methods for biological tissue characterization. *Journal of Biomedical Optics*, 20(3), Article 03090. <https://doi.org/10.1117/1.JBO.20.3.03090>
34. Taira, E. (2021). Information and Communication Technology in Agriculture. Chapter in a book: Near-infrared spectroscopy: Theory, spectral analysis, instrumentation, and applications. Singapore: Springer, 2021. <https://doi.org/10.1007/978-981-15-8648-4>
35. Naes, T., Isaksson, T., Fearn, T., Davies, T. (2002). A user-friendly guide to multivariate calibration and classification. NIR Publications, Chichester, UK, 2002.

## REFERENCES

1. Cortés, V., Blasco, J., Aleixos, N., Cubero, S., Talens, P. (2019). Monitoring strategies for quality control of agricultural products using visible and near-infrared spectroscopy: A review. *Trends in Food Science and Technology*, 85, 138–148. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2019.01.015>
2. Sibirina, T. F., Melnikova, E. V., Mordvinova, N. M., Poluboyarinov, N. A., Belyakov, A. A. (2020). Forecasting the strength of spring wheat flour cultivated in forest-steppe conditions. *Era of Science*, 21, 49–60. <https://doi.org/10.24411/2409-3203-2020-11007> (In Russian)
3. Porep, J. U., Kammerer, D. R., Carle, R. (2015). On-line application of near infrared (NIR) spectroscopy in food production. *Trends in Food Science and Technology*, 46(2(A)), 211–230. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2015.10.002>
4. Galata, D. L., Meszaros, L. A., Ficzer, M., Vass, P., Nagy, B., Szabo, E. et al. (2021). Continuous blending monitored and feedback controlled by machine vision-based PAT tool. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 196, Article 113902. <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2021.113902>
5. Radman, M., Jurina, T., Benković, M., Tušek, A. J., Valinger, D., Kljusurić, J. G. (2018). Application of NIR spectroscopy in gluten detection as a cross-contaminant in food. *Hrvatski Casopis za Prehrambenu Tehnologiju, Biotehnologiju i Nutricionizam*, 13(3–4), 120–127. <https://doi.org/10.31895/hcptbn.13.3-4.4>
6. Platov, Y. T., Metlenkin, D. A., Platova, R. A., Rassulov, V. A., Vereshchagin, A. I., Marin, V. A. (2021). Buckwheat identification by combined UV-VIS-NIR spectroscopy and multivariate analysis. *Journal of Applied Spectroscopy*, 88, 723–730. <https://doi.org/10.1007/s10812-022-01315-7>
7. de Brito, A. A., Campos, F., dos Reis Nascimento, A., Damiani, C., da Silva, F. A., de Almeida Teixeira, G. H. et al. (2022). Non-destructive determination of color, titratable acidity, and dry matter in intact tomatoes using a portable Vis-NIR spectrometer. *Journal of Food Composition and Analysis*, 107, Article 104288. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2021.104288>
8. Pourdarbani, R., Sabzi, S., Kalantari, D., Karimzadeh, R., Ilbeygi, E., Arribas, J. I. (2020). Automatic non-destructive video estimation of maturation levels in Fuji apple (*Malus Malus pumila*) fruit in orchard based on colour (Vis) and spectral (NIR) data. *Biosystems Engineering*, 195, 136–151. <https://doi.org/10.1016/j.biosystemseng.2020.04.015>
9. Menezes, C. M., da Costa, A. B., Renner, R. R., Bastos, L. F., Ferrão, M. F., Dressler, V. L. (2014). Direct determination of tannins in *Acacia mearnsii* bark using near-infrared spectroscopy. *Analytical Methods*, 6(20), 8299–8305. <https://doi.org/10.1039/C4AY01558D>
10. de Matos, M. F. R., Bezerra, P. Q. M., Correia, L. C. A., Viola, D. N., de Oliveira Rios, A., Druzian, J. I. et al. (2021). Innovative methodological approach using CIELab and dye screening for chemometric classification and HPLC for the confirmation of dyes in cassava flour: A contribution to product quality control. *Food Chemistry*, 365, Article 130446. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.130446>
11. Jeber, J. N., Hassan, R. F., Hammood, M. K., Al-Jeilawi, O. H. R. (2021). Sensitive and simple colorimetric methods for visual detection and quantitative determination of semicarbazide in flour products using colorimetric reagents. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 341, Article 130009. <https://doi.org/10.1016/j.snb.2021.130009>
12. Rodionova, O. Ye., Pomerantsev, A. L. (2006). Chemometrics: Achievements and prospects. *Russian Chemical Reviews*, 75(4), 271–287. <https://doi.org/10.1070/RC2006v075n04ABEH003599>
13. Prasadi, V. P. N., Joye, I. J. (2023). Effect of soluble dietary fibre from barley on the rheology, water mobility and baking quality of wheat flour dough. *Journal of Cereal Science*, 112, Article 103715. <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2023.103715>
14. Parasich, A. V., Parasich, V. A., Parasich, I. V. (2021). Training set formation in machine learning tasks. *Survey. Information and Control Systems*, 4(113), 61–70. <https://doi.org/10.31799/1684-8853-2021-4-61-70> (In Russian)
15. Aw, W. C., Ballard, J. W. O. (2019). Near-infrared spectroscopy for metabolite quantification and species identification. *Ecology and Evolution*, 9(3), 1336–1343. <https://doi.org/10.1002/ece3.4847>
16. Shibaeva, A. A., Myasnikova, E. N. (2020). Factors and standards that shape the quality of wheat flour. *Technologies for the Food and Processing Industry of AIC-Healthy Food*, 3, 72–77. <https://doi.org/10.24411/2511-6447-2020-10064> (In Russian)
17. Horváth, Z. H., Véha, A. (2015). Colour characteristics of winter wheat grits of different grain size. *Acta Universitatis Sapientiae, Alimentaria*, 8(1), 70–77. <https://doi.org/10.1515/ausal-2015-0006>
18. Malchikov, P. N., Myasnikova, M. G. (2020). The content of yellow pigments in durum wheat (*Triticum durum* Desf.) grains: Biosynthesis, genetic control, marker selection. *Vavilov journal of genetics and breeding*, 24(5), 501–511. <https://doi.org/10.18699/VJ20.642> (In Russian)
19. Lachman, J., Martinek, P., Kotikova, Z., Orsáka, M., Šulcaet, M. (2017). Genetics and chemistry of pigments in wheat grain – A review. *Journal of Cereal Science*, 74, 145–154. <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2017.02.007>
20. Fratianni, A., Irano, M., Panfilii, G., Acquistucci, R. (2005). Estimation of Color of Durum Wheat. Comparison of WSB, HPLC, and Reflectance Colorimeter Measurements. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(7), 2373–2378. <https://doi.org/10.1021/jf040351n>
21. Steinberg, T. S., Meleshkina, E. P., Shvedova, O. G., Morozova, O. V., Zhiltsova, N. S. (2020). Changes of the optical properties of top-grade flour (semolina) from durum wheat during its ripening. *Food Systems*, 3(2), 24–28. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2020-3-2-24-28>
22. Kolašinac, S. M., Dajić-Stevanović, Z. P., Kilibarda, S. N., Kostić, A. Ž. (2021). Carotenoids: New applications of “old” pigments. *Phyton-International Journal of Experimental Botany*, 90(4), 1041–1062. <https://doi.org/10.32604/phyton.2021.015996>
23. Shlykova, A. N., Balabaev, A. A., Trukhina, E. V., Bazarnova, Y. G. (2020). Preparation of carotenoid pigments from the microalga *Chlorella*. *PNRPU Bulletin. Chemical Technology and Biotechnology*, 3, 20–37. <https://doi.org/10.15593/2224-9400/2020.3.02> (In Russian)
24. Britton, G. (2020). Carotenoid research: History and new perspectives for chemistry in biological systems. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular and Cell Biology of Lipids*, 1865(11), Article 158699. <https://doi.org/10.1016/j.bbalip.2020.158699>
25. Dowell, F. E., Maghirang, E. B., Graybosch, R. A., Berzonsky, W. A., Delwiche, S. R. (2009). Selecting and sorting waxy wheat kernels using near-infrared spectroscopy. *Cereal Chemistry*, 86(3), 251–255. <https://doi.org/10.1094/CCHEM-86-3-0251>
26. Joe, A. A. F., Gopal, A. (April 20–21, 2017). *Identification of spectral regions of the key components in the near infrared spectrum of wheat grain*. International Conference on Circuit, Power and Computing Technologies (ICCPCT). IEEE, Kollam. <https://doi.org/10.1109/ICCPCT.2017.8074207>
27. Hoffman, L. C., Ni, D., Dayananda, B., Abdul Ghafar, N., Cozzolino, D. (2022). Unscrambling the provenance of eggs by combining chemometrics and near-infrared reflectance spectroscopy. *Sensors*, 22(13), Article 4988. <https://doi.org/10.3390/s22134988>
28. Wang, P., Ma, T., Slipchenko, M. N., Liang, S., Hui, J., Shung, K. K. et al. (2014). High-speed intravascular photoacoustic imaging of lipid-laden atherosclerotic plaque enabled by a 2-kHz barium nitrite Raman laser. *Scientific Reports*, 4(1), Article 6889. <https://doi.org/10.1038/srep06889>
29. Puertas, G., Cazón, P., Vázquez, M. (2023). Application of UV-VIS-NIR spectroscopy in membrane separation processes for fast quantitative compositional analysis: A case study of egg products. *LWT*, 174, Article 114429. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2023.114429>
30. Monago-Maraña, O., Eskildsen, C. E., Galeano-Díaz, T., de la Peña, A. M., Wold, J. P. (2021). Untargeted classification for paprika powder authentication using visible–Near infrared spectroscopy (VIS-NIRS). *Food Control*, 121, Article 107564. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2020.107564>
31. Núñez-Sánchez, N., Martínez-Marín, A. L., Polvillo, O., Fernández-Cabanás, V. M., Carrizosa, J., Urrutia, B. et al. (2016). Near Infrared Spectroscopy (NIRS) for the determination of the milk fat fatty acid profile of goats. *Food Chemistry*, 190, 244–252. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.05.083>
32. Uysal, R. S., Acar-Soykut, E., Boyaci, I. H. (2020). Determination of yolk: White ratio of egg using SDS-PAGE. *Food Science and Biotechnology*, 29, 179–186. <https://doi.org/10.1007/s10068-019-00650-4>
33. Wilson, R. N., Nadeau, K. P., Jaworski, F. B., Tromberg, B. J., Durkina, A. J. (2015). Review of short-wave infrared spectroscopy and imaging methods for biological tissue characterization. *Journal of Biomedical Optics*, 20 (3), Article 03090. <https://doi.org/10.1117/1.JBO.20.3.03090>

34. Taira, E. (2021). Information and Communication Technology in Agriculture. Chapter in a book: Near-infrared spectroscopy: Theory, spectral analysis, instrumentation, and applications. Singapore: Springer, 2021. <https://doi.org/10.1007/978-981-15-8648-4>

35. Næs, T., Isaksson, T., Fearn, T., Davies, T. (2002). A user-friendly guide to multivariate calibration and classification. NIR Publications, Chichester, UK, 2002.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ	AUTHOR INFORMATION
Принадлежность к организации	Affiliation
<b>Платова Раиса Абдулгафаровна</b> — кандидат технических наук, доцент, кафедра товароведения и товарной экспертизы, Российский экономический университет им. Г. В. Плеханова 117997, Москва, Стремянный переулок, 36 Тел.: +7-916-346-37-75 E-mail: Platova.RA@rea.ru ORCID: <a href="http://orcid.org/0000-0001-9583-8188">http://orcid.org/0000-0001-9583-8188</a>	<b>Raisa A. Platova</b> , Candidate of Technical Sciences, Docent, Department of Commodity Science, Plekhanov Russian University of Economics Stremyanny Lane, 36, Moscow, 117997, Russia Tel.: +7-916-346-37-75 E-mail: Platova.RA@rea.ru ORCID: <a href="http://orcid.org/0000-0001-9583-8188">http://orcid.org/0000-0001-9583-8188</a>
<b>Жиркова Елена Владимировна</b> — кандидат технических наук, доцент, кафедра товароведения и товарной экспертизы, Российский экономический университет им. Г. В. Плеханова 117997, Москва, Стремянный переулок, 36 Тел.: +7-929-590-45-48 E-mail: Zhirkova.EV@rea.ru ORCID: <a href="http://orcid.org/0000-0002-8934-4162">http://orcid.org/0000-0002-8934-4162</a>	<b>Elena V. Zhirkova</b> , Candidate of Technical Sciences, Docent, Department of Commodity Science, Plekhanov Russian University of Economics. Stremyanny lane, 36, Moscow, 117997, Russia Tel.: +7-929-590-45-48 E-mail: Zhirkova.EV@rea.ru ORCID: <a href="http://orcid.org/0000-0002-8934-4162">http://orcid.org/0000-0002-8934-4162</a>
<b>Метленкин Дмитрий Андреевич</b> — инженер, Инжиниринговый центр, Российский экономический университет им. Г. В. Плеханова 117997, Москва, Стремянный переулок, 36 Тел.: +7-963-656-79-92 E-mail: Metlenkin.DA@rea.ru ORCID: <a href="http://orcid.org/0000-0002-7006-2253">http://orcid.org/0000-0002-7006-2253</a> * автор для контактов	<b>Dmitrii A. Metlenkin</b> , Engineer, Engineering Center, Plekhanov Russian University of Economics Stremyanny Lane, 36, Moscow, 117997, Russia Tel.: +7-963-656-79-92 E-mail: Metlenkin.DA@rea.ru ORCID: <a href="http://orcid.org/0000-0002-7006-2253">http://orcid.org/0000-0002-7006-2253</a> * corresponding author
<b>Лысенкова Анна Андреевна</b> — аспирант, кафедра товароведения и товарной экспертизы, Российский экономический университет им. Г. В. Плеханова 117997, Москва, Стремянный переулок, 36 Тел.: +7-915-479-56-90 E-mail: ann.terra@mail.ru ORCID: <a href="https://orcid.org/0009-0002-8302-7542">https://orcid.org/0009-0002-8302-7542</a>	<b>Anna A. Lysenkova</b> , Graduate Student, Department of Commodity Science, Plekhanov Russian University of Economics. Stremyanny lane, 36, Moscow, 117997, Russia Tel.: +7-915-479-56-90 E-mail: ann.terra@mail.ru ORCID: <a href="https://orcid.org/0009-0002-8302-7542">https://orcid.org/0009-0002-8302-7542</a>
<b>Платов Юрий Тихонович</b> — доктор технических наук, профессор, кафедра товароведения и товарной экспертизы, Российский экономический университет им. Г. В. Плеханова 117997, Москва, Стремянный переулок, 36 Тел.: +7-910-473-21-75 E-mail: Platov.YT@rea.ru ORCID: <a href="http://orcid.org/0000-0001-6157-572X">http://orcid.org/0000-0001-6157-572X</a>	<b>Yuri T. Platov</b> , Doctor of Technical Sciences, Professor, Department of Commodity Science, Plekhanov Russian University of Economics Stremyanny lane, 36, Moscow, 117997, Russia Tel.: +7-910-473-21-75 E-mail: Platov.YT@rea.ru ORCID: <a href="http://orcid.org/0000-0001-6157-572X">http://orcid.org/0000-0001-6157-572X</a>
<b>Рассулов Виктор Асафович</b> — кандидат геолого-минералогических наук, Всероссийский научно-исследовательский институт минерального сырья им. Н. М. Федоровского 19017, Москва, Старомонетный пер., д. 31 Тел.: +7-905-778-45-16 E-mail: rassulov@mail.ru ORCID: <a href="http://orcid.org/0000-0001-6235-0936">http://orcid.org/0000-0001-6235-0936</a>	<b>Victor A. Rassulov</b> , Candidate of Geological and Mineralogical Sciences, All-Russian Scientific-Research Institute of Mineral Resources named after N. M. Fedorovsky Staromonetny Lane, 31, Moscow, 19017, Russia Tel.: +7-905-778-45-16 E-mail: rassulov@mail.ru ORCID: <a href="http://orcid.org/0000-0001-6235-0936">http://orcid.org/0000-0001-6235-0936</a>
<b>Критерии авторства</b>	<b>Contribution</b>
Авторы в равных долях имеют отношение к написанию рукописи и одинаково несут ответственность за плагиат.	Authors equally relevant to the writing of the manuscript, and equally responsible for plagiarism.
<b>Конфликт интересов</b>	<b>Conflict of interest</b>
Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.	The authors declare no conflict of interest.



DOI: <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2024-7-1-31-43>



Поступила 08.11.2023

<https://www.fsjour.com/jour>

Поступила после рецензирования 20.02.2024

Обзорная статья

Принята в печать 26.02.2024

Open access

© Кузнецова А. П., Аль-Шехадат Р. И., 2024

## ПИЩЕВЫЕ ОТХОДЫ — СЫРЬЕ ДЛЯ ПОЛУЧЕНИЯ БИОРАЗЛАГАЕМЫХ ПОЛИГИДРОКСИАЛКАНОАТОВ: СОСТОЯНИЕ И ПЕРСПЕКТИВЫ

Кузнецова А. П.\* , Аль-Шехадат Р. И.

Факультет биотехнологий (BioTech), Университет ИТМО, Санкт-Петербург, Россия

### КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: АННОТАЦИЯ

*пищевые отходы, биоразлагаемые полимеры, полигидрокси-алканоаты, отходы фруктов, биоразлагаемая упаковка*

Обострение проблемы загрязнения окружающей среды пластиком стимулирует поиск не только наиболее перспективного биоразлагаемого полимера, но и оптимального сырья для его производства. Полигидроксисилканоаты (ПГА) — биоразлагаемые полимеры, обладающие физико-механическими свойствами близкими к традиционным пластикам, рассматриваются как потенциальное решение данной проблемы. Производство ПГА может быть реализовано согласно принципам биоэкономики замкнутого цикла путем биотехнологической переработки вторичного сырья с получением продукта с добавочной стоимостью. Однако важной составляющей расширения производства ПГА является необходимость обнаружения наиболее перспективного вторичного сырья для его производства. Проведен анализ рынка ПГА в России и мире, в качестве основополагающего фактора роста производства ПГА выделяется спрос в упаковочной, пищевой промышленности, биомедицине и агропромышленности. Библиографический анализ с применением схемы PRISMA и программы VOSviewer позволил выявить три основных направления исследований ПГА: поиск оптимального вторичного сырья среди пищевых отходов; анализ вызовов при производстве ПГА; изучение экологических и экономических эффектов от внедрения ПГА. Определены перспективные виды вторичного сырья: отходы производства растительных масел, отходы переработки фруктов и овощей, молочная сыворотка, отходы сахарной и крахмальной промышленности, отработанная кофейная гуща, экстрагированные из нее кофейные масла. Выявлены преимущества и недостатки использования вторичного сырья, возможности совершенствования способов его применения в производстве ПГА, а также установлены основные штаммы-продуценты. Для оптимизации стоимости и процессов производства ПГА требуются дальнейшие исследования пищевых отходов, направленные на разработку подходов к увеличению выхода полимера, в том числе путем применения процессов подготовки вторичного сырья. Также для перечисленных целей необходим поиск наиболее продуктивных штаммов, синтезирующих ПГА.

Received 08.11.2023

Available online at <https://www.fsjour.com/jour>

Accepted in revised 20.02.2024

Review article

Accepted for publication 26.02.2024

Open access

© Kuznetsova A. P., Al-Shekhadat R. I., 2024

## FOOD WASTE AS A RAW MATERIAL FOR PRODUCTION OF POLYHYDROXYALKANOATES: STATE AND PROSPECTS

Anna P. Kuznetsova\*, Ruslan I. Al-Shekhadat

Faculty of Biotechnologies (BioTech), ITMO University, Saint-Petersburg, Russia

### KEY WORDS:

*food waste, biodegradable polymers, polyhydroxyalkanoates, fruit waste, biodegradable packaging*

### ABSTRACT

The growing problem of environmental pollution by plastic leads to the search not only for the most promising biodegradable polymer, but also for optimal raw materials for its production. Polyhydroxyalkanoates (PHA) — biodegradable polymers with physical and mechanical properties close to traditional plastics — are considered a potential solution to this problem. The production of PHA can be organized according to the principles of circular bioeconomy through biotechnological processing of secondary raw materials to produce a product with added value. However, an important component of the expansion of PHA production is the need to find the most promising secondary raw materials for its production. The PHA market in Russia and the global market have been analyzed, highlighting the demand in the packaging and food industries, biomedicine and agro-industry as the fundamental factor for the growth of PHA production. Bibliographic analysis using the PRISMA scheme and VOSviewer program allowed identifying three main directions of PHA research: search for optimal secondary raw materials among food waste, analysis of challenges in PHA production, and the ecological and economic effects of its implementation. Promising types of secondary raw materials have been revealed: vegetable oil production waste, fruit and vegetable processing waste, dairy whey, sugar and starch industry waste, spent coffee grounds and coffee oils extracted from them. Advantages and disadvantages of using secondary raw materials, options for improving their use in the production of PHA, and the main strains-producers were determined. To optimize the cost and processes of PHA production, further studies of food waste are required, aimed at developing approaches to increase the polymer yield, including through the use of secondary raw material preparation processes, and the search for the most productive strains synthesizing PHA.

### 1. Введение

Полигидроксиалканоаты (ПГА) — биоразлагаемые полимеры, синтезируемые микроорганизмами. Значительным преимуществом этого семейства полимеров выступают аналогичные традиционным пластикам физико-механические свойства [1]. Кроме того, производство ПГА может полностью соответствовать принципам биоэкономики замкнутого цикла. Так, в качестве источника углерода и питательных веществ для клеток, производящих ПГА, применяются бытовые и промышленные отходы. А использованная продукция

из ПГА может быть переработана вместе с органическими отходами посредством компостирования. Такой подход повышает ресурсоэффективность, вносит вклад в систему управления отходами, а главное, снижает общую стоимость производства ПГА [2].

Ожидается, что объем рынка полигидроксиалканоатов вырастет с 32,14 килотонн в 2023 году до 92,41 килотонн к 2028 году при темпе роста в 23,52% в течение прогнозного периода (2023–2028 гг.). В денежном эквиваленте прогнозируется рост с 93 миллионов долларов в 2023 году до 195 миллионов в 2028 году при темпе роста 15,9% [3].

ДЛЯ ЦИТИРОВАНИЯ: Кузнецова, А. П., Аль-Шехадат, Р. И. (2024). Пищевые отходы — сырье для получения биоразлагаемых полигидроксиалканоатов: состояние и перспективы. *Пищевые системы*, 7(1), 31-43. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2024-7-1-31-43>

FOR CITATION: Kuznetsova, A. P., Al-Shekhadat, R. I. (2024). Food waste as a raw material for production of polyhydroxyalkanoates: State and prospects. *Food Systems*, 7(1), 31-43. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2024-7-1-31-43>

В первую очередь, это обусловлено усилением государственного контроля и разработкой нормативных актов, нацеленных на уменьшение потребления одноразовых изделий из пластика, а также на борьбу с проблемами, связанными с накоплением и переработкой пластиковых отходов.

Основным фактором, стимулирующим рост рынка полигидроксиалканатов, является растущий спрос на биоразлагаемые материалы в упаковочной и пищевой промышленности, а также в биомедицине и агропромышленности. Немаловажно и появление новых и экономически эффективных видов сырья для производства ПГА, таких, как отходы пищевой промышленности [3,4].

Ключевыми компаниями-производителями ПГА являются [4]:

- Danimer Scientific (США),
- Shenzhen Ecomann Biotechnology Co, Ltd. (Китай),
- Kaneka Corporation (Япония),
- RWDC Industries (Сингапур),
- Newlight Technologies LLC (США),
- TianAn Biologic Materials Co., Ltd. (Китай),
- Biomer (Германия).

На территории России рынок биоразлагаемых полимеров развивается медленнее, однако представлен разнообразными видами таких полимеров, включая полилактид и полигидроксиалканаты; преимущественно рынок состоит из биоразлагаемых растительных композиций [5].

Ранее, в 2013 году правительством был утвержден план мероприятий "Развитие биотехнологий и генной инженерии", рассчитанный на период до 2020 года и включающий в себя расширение рынка биополимеров. Однако в настоящий момент в России представлено крайне малое количество крупных функционирующих предприятий. Большинство биополимеров производятся небольшими инициативными предприятиями и стартапами.

Несколько проектов, инициированные в сотрудничестве с иностранными компаниями ("Ренова" в сотрудничестве с голландской компанией Purac, ТАИФ и с итальянской фирмой Bio-on), не дошли до стадии реализации.

Однако, согласно пресс-службе Министерства сельского хозяйства Российской Федерации, инициируются новые проекты. Так, компания "Рустарк" в особой экономической зоне «Липецк» планирует развернуть инновационный производственный комплекс по переработке пшеничного сырья на крахмалы и биополимеры (полилактид). Заявляется выход на получение биополимеров к 2024 году [5].

Сельскохозяйственный холдинг «Сибагро» также рассматривает возможность производства полилактида из перерабатываемой холдингом пшеницы. Прогнозируется объем производства около 30 тыс. тонн полилактида ежегодно.

Несмотря на постепенное развитие производственных мощностей, комплексный анализ рынка и производства в настоящий момент не проведен. Отдельные аналитические работы отмечают рост спроса на полилактид, с целью производства пищевой упаковки. Информационно-аналитический центр Рурес в своих исследованиях подчеркивает низкую вероятность масштабного развития производства биоразлагаемых полимеров (с исключением для полилактида при условии обеспечения государственной поддержки для реализации производственных проектов). Также отмечается, что затраты на сырье в России могут быть на 50–100% выше, чем в США.

В условиях текущей политической обстановки, в связи с которой импорт биополимеров и технологий становится затруднительным, обостряется необходимость разработки технологий производства универсальных биополимеров с возможностью применения в различных областях, включая медицину и производство упаковки для продовольствия, с целью снижения зависимости крупных отраслей промышленности от импорта полимеров [6].

Полигидроксиалканаты могут выступать в качестве перспективных биополимеров для производства в России ввиду возможности значительного снижения их стоимости посредством применения в качестве исходного материала отходов пищевой промышленности.

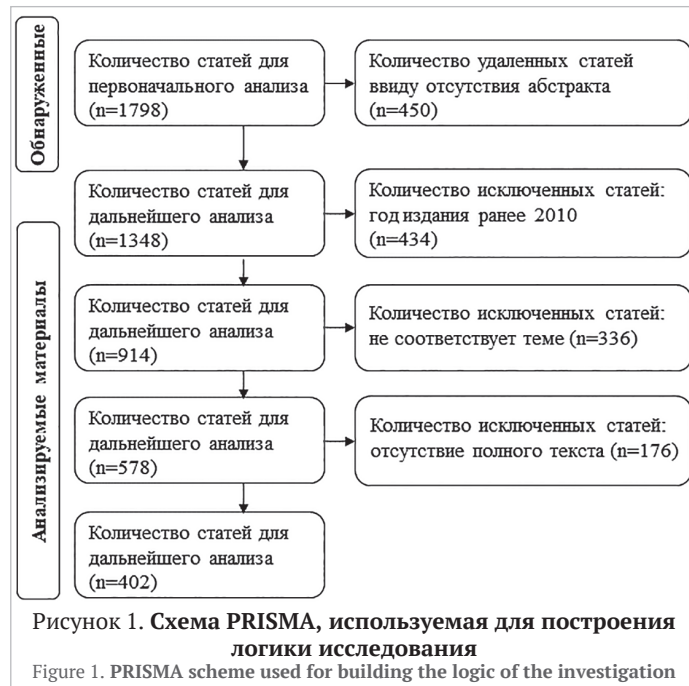
## 2. Объекты и методы

Объектами исследования выступали научные публикации мирового сообщества, представленные на английском языке. Формирование первичной выборки статей происходило из базы данных Lens Org на основе запроса, содержащего такие ключевые слова как «PHA», «polyhydroxyalkanoate» и «food waste». Перечисленные ключевые слова позволяют достаточно точно сформировать выборку научных публикаций, соответствующих тематике исследования.

Используя схему PRISMA (Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses), изображенную на Рисунке 1, были отобраны статьи, соответствующие следующим критериям:

- год публикации: 2010–2023 (что позволяет сфокусировать анализ на современных исследованиях).
- направление исследования: полигидроксиалканаты, food science, биология, бактерии, экология, материаловедение, управление отходами, биотехнология, инженерия окружающей среды, прикладная микробиология и биотехнология, полимеры и пластмассы, управление и утилизация отходов, химия материалов, химия окружающей среды, пищевая промышленность, молекулярная биология, микробиология, биомедицинская инженерия, общее материаловедение, сельскохозяйственные и биологические науки, биохимия, генетика и молекулярная биология.

Дополнительными критериями отсеивания при формировании конечной выборки выступали такие факторы, как наличие аннотации и доступность полного текста научной публикации.



Анализ выборки проводился с применением программы VOSviewer, позволяющей провести визуальный анализ сформированной выборки, определить ключевые темы исследований и связи между ними. Цель использования VOSviewer в данной работе — выявить наиболее актуальные направления исследований в области получения полигидроксиалканатов из пищевых отходов, а также наиболее перспективные виды вторичного сырья.

### 2.1. Анализ с применением VOSviewer

#### 2.1.1. Анализ первичной выборки

Целью проведения библиометрического анализа выступало выявление общих тенденций в сфере исследования биоразлагаемых материалов и их получения из пищевых отходов. Результаты анализа позволили оценить смещение исследовательских интересов в сторону конкретных пищевых отходов, а также свойств полигидроксиалканатов и методов их получения.

Первоначальный анализ проводился по первой сформированной выборке (до ее обработки согласно схеме PRISMA) для выявления крупных кластеров в направлении исследования полигидроксиалканатов и их производства из пищевых отходов. Полученный график представлен на Рисунке 2.

На приведенном графике явно выделены 3 кластера, что позволяет выявить три основных направления исследований ПГА. Самый крупный кластер, синий, визуализирует общее изучение ПГА (study, characteristic, experiment, microbe), его влияние на окружающую среду (environment, soil), социальные аспекты (community, china), а также появление новой экосистемы, пластисферы. Красный кластер указывает на исследования, направленные на изучение сырья для производства ПГА, выявляя наиболее перспективные источники получения полимера (food waste, waste, organic waste, vfas, lignin), а также методы получения ПГА и микроорганизмы, синтезирующие полимер (mmc (mixed microbial culture), bacillus, cupriavidus). Вопро-

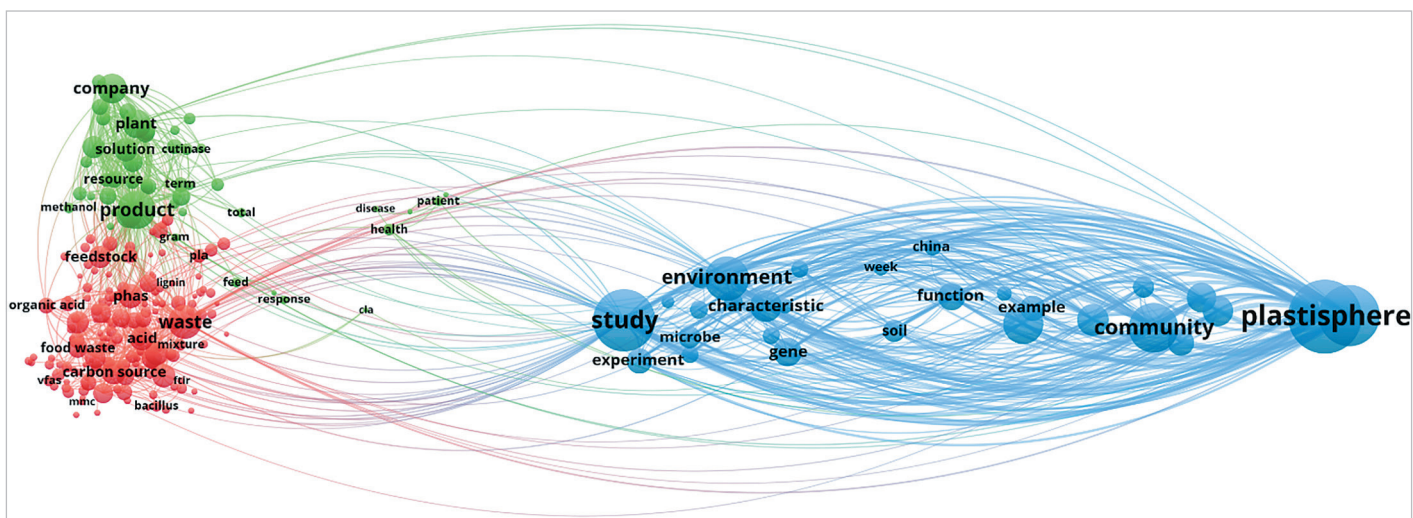


Рисунок 2. Библиометрическая карта публикаций в предметной области получения ПГА из пищевых отходов (инструментарий: VOSviewer, метод: Keyword Co-occurrence)

Figure 2. Bibliometric map of publications in the subject field of PHA production from food waste (tools: VOSviewer, method: Keyword Co-occurrence)

сы о целесообразности производства ПГА, включая экономическую выгоду, актуальные проблемы производства и качество конечного продукта, объединены в зеленый кластер.

Из графика можно сделать предположение о тесной взаимосвязи между исследованиями зеленого и красного кластеров, которые можно охарактеризовать как исследования, посвященные вопросам производства и масштабирования промышленного производства полимеров, включая аспекты экономической выгоды. В то время как синий кластер, больше связанный с общими лабораторными и социальными исследованиями, визуализирован в некотором отдалении. Таким образом, возможно предположить, что в настоящий момент исследования ПГА в большей степени направлены на лабораторные эксперименты, на изучение свойств полимера и получение оптимальных композиций, а экономические и промышленные вопросы производства полимера в крупных масштабах постепенно раскрываются в более фундаментальных исследованиях. Кроме того, в научных работах делается акцент на поиск источников углерода для получения полимера, таких как отходы производства (waste) и пищевые отходы (food waste).

Полученная визуализация также была рассмотрена с позиции распределения исследований по годам. Частота упоминания ключевых слов с 2010 по 2023 год представлена на Рисунке 3.

Рисунок 3 иллюстрирует постепенное смещение фокуса от первоначальных лабораторных исследований к практическим вопросам выбора сырья производства ПГА (waste, food waste, feedstock, vfas) и к аспектам производства полимера (plant, solution, resource, term, company). Также в последние несколько лет активно изучаются отдельные виды сырья, микробные консорциумы, пластисфера, экономика.

Следующий этап анализа включал в себя более детальное рассмотрение сформировавшихся и формирующихся тенденций исследований о получении ПГА из пищевых отходов, а также сравнение с определенными общими направлениями исследований.

#### 2.1.2. Анализ конечной выборки

Библиометрическая карта выборки научных исследований, полученной после обработки согласно представленной ранее схеме PRISMA, представлена на рисунке 4. Визуализация выборки представляет собой три крупных кластера, также очевидно некоторое смещение в сторону зеленого кластера. Наблюдается значительная конкретизация критерия объединения терминов в кластеры, в то же время, основные тенденции, выявленные на первичной выборке, остаются актуальными.

Синий кластер, сформированный из 14 терминов, продолжает отмеченное ранее направление общих, лабораторных исследований

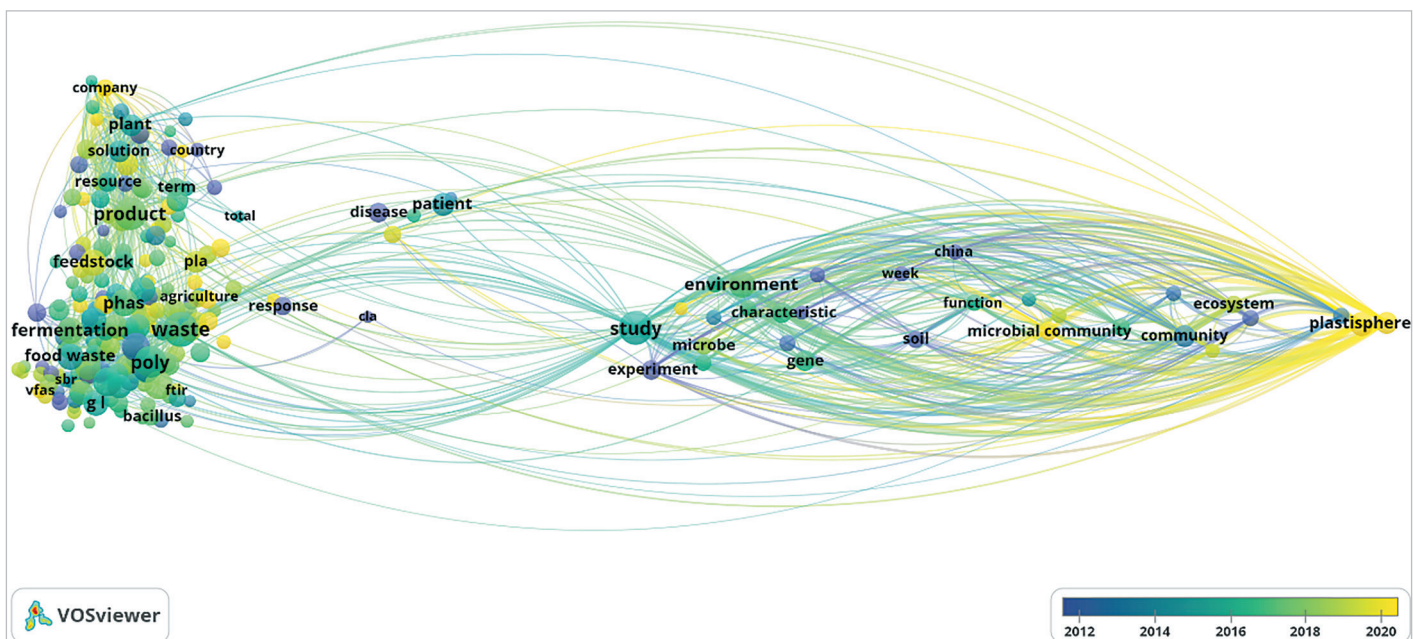


Рисунок 3. Библиометрическая карта публикаций в предметной области получения ПГА с распределением по среднему году публикаций (инструментарий: VOSviewer, метод: Keyword Co-occurrence)

Figure 3. Bibliometric map of publications in the subject field of PHA production with distribution by average year of publications (tools: VOSviewer, method: Keyword Co-occurrence)

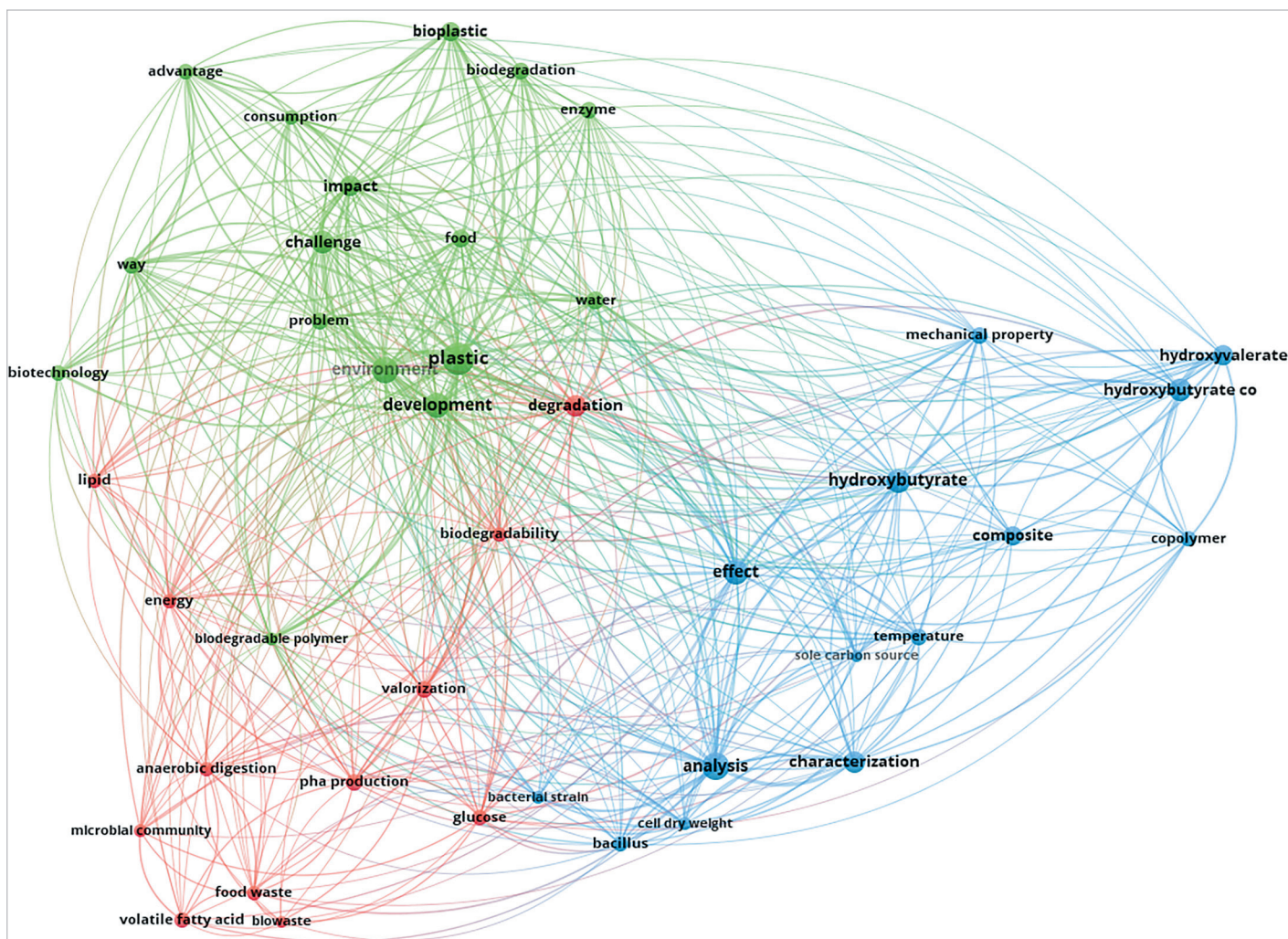


Рисунок 4. Библиометрическая карта публикаций в предметной области получения ПГА из пищевых отходов в соответствии со схемой PRISMA (инструментарий: VOSviewer, метод: Keyword Co-occurrence)  
 Figure 4. Bibliometric map of publications in the subject field of PHA production from food waste according to the PRISMA scheme (tools: VOSviewer, method: Keyword Co-occurrence)

получения ПГА, и благодаря визуализации возможно более точное определение фокуса внимания исследователей. Наиболее сильные связи наблюдается у часто встречающихся терминов effect (33 повторения, сила связи 88) и analysis (38 повторений, сила связи 103), что подтверждает общую группировку терминов кластера по теме изучения и исследования полимера, его сополимеров, композитных материалов. Значительное внимание привлекает изучение возможности получения полигидроксивалерата (ПГВ) и полигидроксибутирата (ПГБ). Как основные характеристики процесса получения полимера и оценки его качества в исследованиях можно отметить такие термины как механические свойства, сухая масса клеток, единственный источник углерода, штамм бактерий (mechanical property, cell dry weight, sole carbon source, bacterial strain). Анализируя синий кластер на карте с отображением среднего года публикаций, можно отметить смещение исследований и вопросов, связанных с бактериальными штаммами (2017 г.) и сополимерами (2017 г.) к ПГБ (2018,77) и ПГВ (2018,77) и далее к механическим свойствам (2019,67).

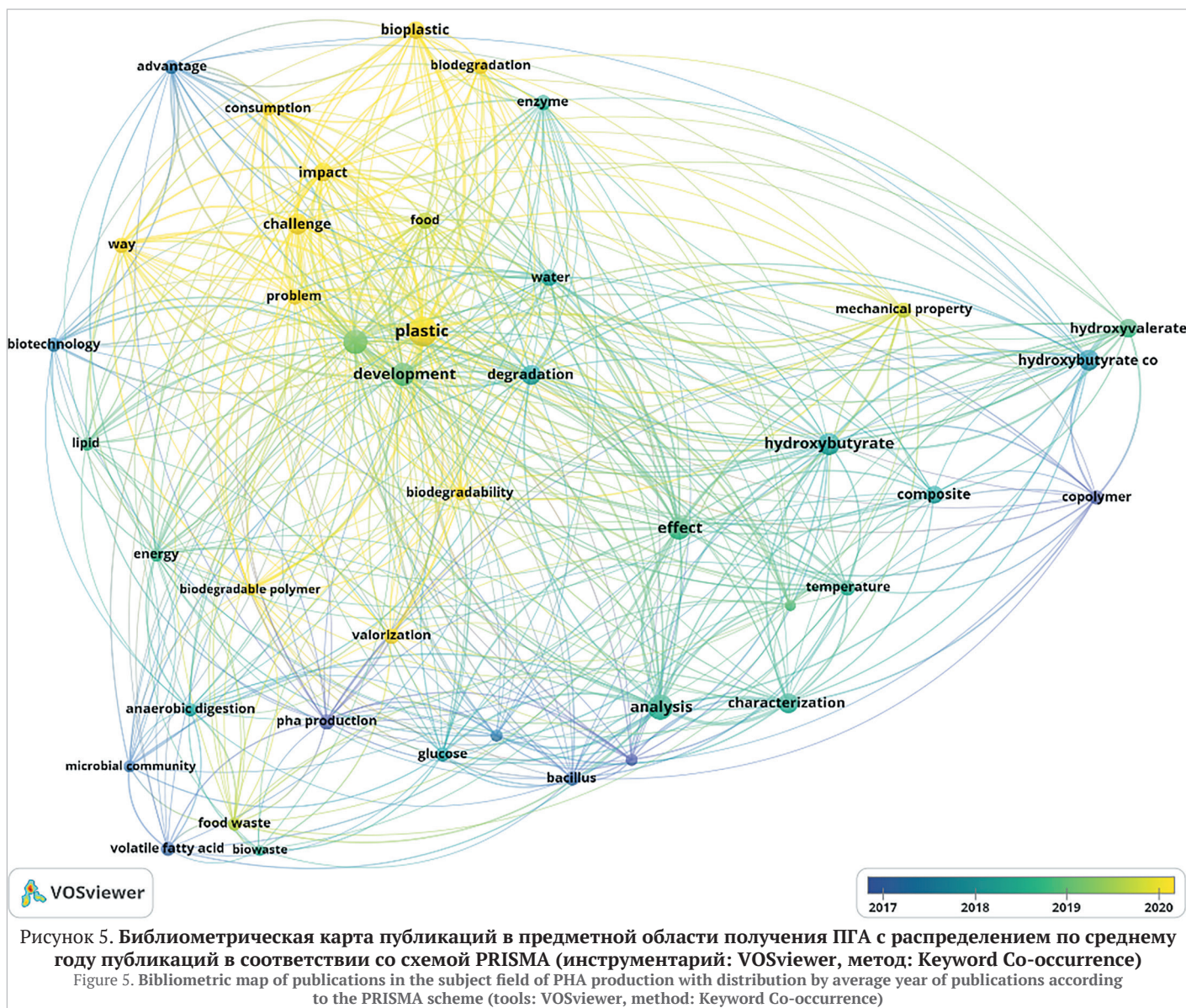
Красный кластер, содержащий 12 терминов, как и при визуализации первичной выборки, иллюстрирует вопросы, связанные с выбором сырья для производства ПГА. Кроме того, выделены термины, характеризующие процесс производства ПГА (pha production, energy), улучшение качества сырья (anaerobic digestion) и его валоризацию (valorization). В красный кластер также включены термины, описывающие способность полимера к биоразложению (biodegradability, degradation). В красном кластере отображены не только общие термины, описывающие вторичное сырье (food waste, biowaste), но и конкретные примеры сырья, рассматриваемые в исследованиях (glucose, volatile fatty acid, lipid). Глюкоза выступает классическим сырьем для получения ПГА и позволяет получать высокие выходы полимера, но значительно увеличивает его стоимость.

Для снижения конечной стоимости полимера, в качестве перспективного сырья рассматриваются пищевые отходы, однако на карте не отображены такие пищевые отходы как: молочная сыворотка, отходы фруктов и овощей, кофейных жмых и другие. Таким образом, можно утверждать, что рассмотрение данных типов сырья исследований пищевых отходов постепенно будет смещаться от общего изучения к выявлению конкретных типов вторичных ресурсов. Это также подтверждает Рисунок 5, где заметно движение от терминов pha production и volatile fatty acid (2016,93 и 2017,25 гг. соответственно) к glucose (2018 г.) и далее к food waste и valorization (2019,55 и 2020,40 гг. соответственно).

Тесная связь терминов красного и зеленого кластера также прослеживается в конечной выборке. Однако конкретизация выборки несколько меняет общее содержание кластера, отдавая его от экономической и производственной тематики. Зеленый кластер включает в себя 16 терминов, описывающих сложности, вызовы и эффекты, связанные с полигидроксиалканатами. По перечисленным в кластере терминам, можно предположить, что в общем ПГА видятся исследователям как перспективный экологичный полимер с рядом преимуществ, сравнимый с пластиками (plastic — 50 упоминаний).

Таким образом, визуализация с применением VOSviewer позволила выявить три основных направления научных исследований ПГА, а также их получения из пищевых отходов:

1. Исследование и изучение ПГА, лабораторное получение полимера, его сополимеров и оценка их механических свойств.
2. Пищевые отходы как сырье для получения ПГА: изучение видов, улучшение качества сырья, валоризация.
3. Вызовы и эффекты применения ПГА, производство полимера, противопоставление или сравнение с пластиками.



Для каждого из выделенных направлений исследований был проведен более детальный анализ с целью определения основных результатов, сложностей, а также перспективных видов сырья и лабораторных подходов для получения ПГА. Значительное внимание было уделено текущей ситуации с производством ПГА в России.

### 3. Отходы пищевой промышленности и агропромышленного сектора как сырье для получения ПГА

Подбор дешевого и экологически безопасного сырья для производства ПГА может обеспечить значительное снижение стоимости на конечный полимерный продукт. Кроме того, учитывая особенности биосинтеза ПГА, открываются возможности его производства с применением принципов экономики замкнутого цикла. В связи с этим, значительное внимание в качестве потенциального сырья для производства привлекают отходы пищевой и сельскохозяйственной промышленности. Предпосылками к этому выступают, в первую очередь, большое их количество, необходимость экономически выгодной переработки и доступность. Более того, специальное выращивание сырья для производства биополимеров (например, кукурузы), может оказывать негативное воздействие на экологию (фотохимический смог, эвтрофикация и закисление почв) а также демонстрировать нерациональное использование пищевых ресурсов [7].

К сырью для производства ПГА были сформулированы следующие требования [8]:

1. Сырье должно быть возобновляемой биомассой, что позволит избежать негативное воздействие на окружающую среду.

2. Стоимость сырья должна быть минимальна, что обеспечит снижение стоимости его переработки и производства конечного продукта.
3. Сырье должно быть легкодоступно для производства, что позволит снизить транспортные издержки и также уменьшить стоимость конечного продукта.
4. Сырье должно быть богато углеродом, что обеспечит более высокие степени конверсии сырья микроорганизмами в конечный продукт. В качестве сырья для производства ПГА рассматриваются несколько групп отходов: сточные воды, сырой глицерин, агропромышленные отходы, отходы животноводства, пищевые отходы. Среди пищевых отходов основным сырьем для производства ПГА рассматривают:
  - богатые липидами органические отходы: отработанные кулинарные масла, оливковые и подсолнечные выжимки, сточные воды масляных производств, отходы животного жира и другие;
  - отходы молочной промышленности: сыворотка;
  - отходы переработки фруктов и овощей: выжимки фруктов, жмых;
  - отходы сахарной промышленности: меласса, бегасса, сточные воды сахарных производств;
  - отходы кофе (кофейных жмых);
  - отходы производства крахмала;
  - сточные воды агропромышленных и пищевых производств.

Также в качестве сырья для производства ПГА активно рассматривается органическая фракция твердых бытовых отходов [9]. Другие потоки отходов, такие как фильтрат из компостной промышленности и городские сточные воды, могут быть рассмотрены для производства ПГА, но следует отметить, что эти потоки отличаются сложностью в процессах подготовки и очистки из-за высокого содержания азота и наличия твердых частиц [10].

### 3.1. Подходы к получению ПГА в лабораторных условиях

ПГА могут быть получены тремя различными способами, включая ферментативный катализ, синтез в генетически модифицированных растениях и микробную ферментацию. Среди перечисленных методов микробная ферментация была признана эффективным подходом для производства РНА [11].

Существует три основных пути производства РНА микроорганизмами [11]:

1. Путь I: превращение ацетил-КоА в 3-гидроксibuтирил-КоА;
2. Путь II: деградация жирных кислот по механизму  $\beta$ -окисления;
3. Путь III: биосинтез жирных кислот.

Пути I и III используют пригодные для ферментации сахара, в то время как путь II задействует жирные кислоты для своего роста и производства ПГА. В связи с этим, отходы, содержащие сахара и жирные кислоты, активно рассматриваются как дешевый и доступный источник углерода для синтеза полимеров. В среднем, выход ПГА для субстратов с жирными кислотами и сахарами определяется как 0,6–0,8 г/г и 0,3–0,4 г/г, соответственно [12]. Кроме того, скорость производства ПГА зависит не только от типа источника углерода, но и от концентрации питательных веществ и метаболических путей ферментирующих микроорганизмов [11].

Микроорганизмы, в основном, родов *Ralstonia* (*Cupriavidus*), *Burkholderia*, *Bacillus*, *Allochromatium*, *Pseudomonas* и *Methylobacterium* широко изучены для производства РНА путем использования различных источников углерода из отходов [12]. Примеры некоторых наиболее продуктивных штаммов по типу отходов с указанием выхода полимера представлены в Таблице 1.

Таблица 1. Обобщение штаммов и типов отходов, применяемых в качестве сырья для получения ПГА

Table 1. Summary of strains and waste types used as a raw material for PNA production

Сырье	Штамм, культивирование	Выход полимера	Источник
Сточные воды пивоваренных заводов	<i>Cupriavidus necator</i>	0,022 г ПГБ/(л*ч)	[13]
Сточные воды фабрики шоколадных батончиков	Смешанная культура из аэробного осадка производства по очистке сточных вод, доминировал род <i>Amaricoccus</i> , биореактор	0,93 ± 0,01 г ПГА/(л*ч) (5,51 ± 0,05 г ПГБ/л)	[14]
	Смешанная культура из ферментированных сточных вод с фабрики по производству шоколадных батончиков Mars, доминировал род <i>Plasticicumulans acidivorans</i> , биореактор	0,5 г ПГА/(л*ч) (0,70 ± 0,05 г/л)	[15]
Сырная сыворотка (источник углерода — лактоза)	<i>Alcaligenes latus</i> , биореактор	0,11 г/(л*ч)	[16,17]
Сыворотка сыра рикотта	Смешанная микробная культура, биореактор	0,037 г/(л*ч) (0,52 г ПГА/г среды)	[18]
Сыр Чеддер/сыворотка Панир	$\beta$ -галактозидаза отрицательный, протеаза и липаза положительный изолят <i>Bacillus megaterium</i> штамм T13 (ранее называемый <i>Bacillus sp. T13</i> ), колбы Эрленмейера	0,05 г/(л*ч) (2,20 ± 0,11 г/л)	[19]
Сточные воды производства крахмала маниоки с отработанным маслом (fried oil)	<i>P. aeruginosa</i> L2-1, колбы Эрленмейера	1,64 ± 0,04 г/л (39% ПГА от сухого веса клеток)	[20]
Cassava starch waste (волокнистые отходы и стоки с высоким содержанием крахмала/углерода)	<i>Halogeometricum borinquense</i> , колбы Эрленмейера	1,52 г/л (44,70% г ПГА от сухого веса клеток)	[21]
Cassava starch (крахмал маниоки/кассавы)	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> , колбы Эрленмейера	0,935 г/л (57,70% г ПГА от сухого веса клеток)	[22]
Cassava starch waste (отходы производства крахмала маниоки/кассавы)	<i>Bacillus tequilensis</i> MSU112, биореактор	3,346 г/л	[23]
	<i>Pseudomonas putida</i> KT2442, колбы Эрленмейера	5,16 ± 0,23 г/л	[24]
Сточные воды заводов по производству оливковых масел	<i>Lamproedia hyaline</i> and <i>Candidatur Meganema perideroedes</i> , биореактор	0,189 г/л	[25]
	<i>Azotobacter chroococcum</i> H23, колбы Эрленмейера	1,518 г/л	[26]
Гидролизат отработанной кофейной гущи	<i>Halomonas halophila</i> , колбы Эрленмейера	0,95 г/л	[27]
Экстрагированное кофейное масло из отработанной кофейной гущи	<i>Cupriavidus necator</i> H16, колбы Эрленмейера	49,4 г/л 1,33 г/(л*ч)	[28]
	<i>Pseudomonas resinovorans</i> , колбы Эрленмейера	1,6 г/л	[29]
Жмых сахарного тростника с добавлением кукурузного крутого ликёра (corn steep liquor (CSL)) и отработанного экстрагированного масла из кофейных отходов	<i>Lysinibacillus sp. RGS</i> и <i>Ralstonia eutropha</i> ATCC17699, колбы Эрленмейера	6,38 г/л	[30]
	<i>Pseudomonas resinovorans</i> , биореактор	21,3 г/л 0,05 г/(л*ч)	[31]
Виноградный жмых	<i>C. necator</i> , колбы Эрленмейера	6,4 ± 1,9 г/л 0,117 г/(л*ч)	[32]
Отработанное кулинарное масло для жарки	<i>C. necator</i> , колбы Эрленмейера	1,2 г/л	[33]

Наибольшие объемные выходы полимера можно отметить в случаях с использованием в качестве субстратов:

- виноградного жмыха, как в случае с проведением экспериментов в биореакторе (21,3 г/л) и при лабораторном культивировании в колбах Эрленмейера (6,4 г/л);
- жмыха сахарного тростника (6,38 г/л), лабораторное культивирование;
- экстрагированного кофейного масла из отработанной кофейной гущи (49,4 г/л), лабораторное культивирование;
- сточных вод производства крахмала маниоки (3,346 г/л), биореактор.

Значения, получаемые в различных научных исследованиях, сильно варьируются, что также ставит под сомнение возможность их воспроизведения или масштабирования. Однако можно утверждать, что альтернативные источники сырья, такие как пищевые отходы, выступают перспективным сырьем для получения ПГА, в особенности, в случае подбора оптимальных условий культивирования и при разработке процедуры масштабирования, что в свою очередь требует проведения дополнительных исследований.

### 3.2. Сточные воды агропромышленных и пищевых производств

Сточные воды пищевых и агропромышленных производств различаются по составу, который зависит от производственных факторов, таких как масштаб и вид продукции (фрукты, молочные продукты, масло, овощи, мясо). Выделяются два основных пути микробиологического синтеза ПГА: с использованием сахара в качестве источника углерода или с применением жирных кислот в качестве источника

углерода. Таким образом, сточные воды, содержащие сахара и жирные кислоты, выступают в качестве перспективного сырья для производства ПГА. В настоящий момент, в качестве сырья для изготовления ПГА рассматриваются следующие типы сточных вод пищевых производств [34]:

- Сточные воды пивоваренных заводов (Brewery wastewater, Beer Brewery wastewater);
- Сточные воды фабрик по производству конфет (Candy bar factory wastewater);
- Сыворотка при производстве сыра (Cheese whey);
- Сточные воды производства крахмала маниоки (Cassava starch wastewater);
- Кофейное масло из отходов кофейного производства (Coffee waste oil, Spent coffee grounds oil);
- Вода из процессов переработки фруктов (Fruit processing water);
- Вода из процессов обработки бобовых культур (Leguminous processing water);
- Сточные воды производства молока (Milk processing wastewater);
- Сточные воды производства мороженого (Ice-cream processing wastewater);
- Сточные воды масличных производств (оливкового масла, пальмового масла) (Olive-mill wastewater, Palm oil mill effluent).

Для получения ПГА из сточных вод используются как чистые, так и смешанные культуры микроорганизмов. Последние привлекают больше внимания в связи с повышением конкурентоспособности производства ПГА за счет снижения стоимости процессов (затрат на оборудование и энергию). При использовании смешанных культур не требуются стерильные условия и могут быть задействованы дешевые низкоккачественные субстраты, такие как сточные воды. Кроме того, отмечается возможность применять в качестве смешанной культуры активный ил сточных вод. То есть, в перспективе возможна интеграция производства ПГА в процессы очистки сточных вод [35].

Тем не менее несмотря на то, что смешанные культуры позволяют получать достаточно высокие выходы ПГА, такой подход не обеспечивает образование высокооднородных полимеров, пригодных для использования в медицине и фармацевтике. Каждый вид, входящий в смешанную культуру, производит полимер с различной молярной массой, кристаллическостью и с разным мономерным составом, создавая сополимеры различного качества. Кроме того, состав конечного полимера варьируется в зависимости от изменения сырья [36].

### 3.3. Органические отходы, богатые липидами

В Европе ежегодно потребляется около 17 миллионов тонн растительных масел, и с каждым годом это количество увеличивается примерно на 2% [37]. По оценкам исследователей, ежегодное количество отходов масла для жарки в США составляет от 1,2 до 3 миллиардов галлонов в год, а в Японии — 4–6 млн тонн в год [38]. Исходя из этого, можно сделать вывод о том, что ресурсы отработанного фритюрного масла очень велики. Тем не менее, в странах ЕС не проводилось всестороннего исследования потенциала отработанного фритюрного масла, а сбор фритюрного масла может быть затруднителен.

В России ввиду отсутствия отдельного сбора оценка точного количества отходов фритюрного масла представляется затруднительной. Однако ответственные производители стремятся передавать вторичное сырье на переработку. Например, «Вкусно — и Точка» ежегодно сдает на переработку около 5000 тонн фритюрного масла (что можно оценить в более, чем 80 железнодорожных цистерн). При этом 3000 тонн отправляется на получение биодизеля, а еще 2000 тонн на переработку в хозяйственное мыло и смазочные материалы. Также компания разрабатывает пилотный проект по переработке кофейного жмыха. В настоящий момент, проекты реализуются в Москве, но планируется их масштабирование.

Утверждается, что сырые и отработанные растительные масла, включая отработанное масло для жарки, могут быть использованы в качестве сырья для производства ПГА [39].

Исследования давно показали, что *Cupriavidus necator* может производить ПГБ из отработанного масла для жарки, с концентрацией, аналогичной той, что была получена из глюкозы, а именно 1,2 г/л [39]. Недавние изыскания подтверждают, что отработанное масло для жарки может стать субстратом и для *Halomonas neptunia* и *Halomonas hydrothermalis*, причем *H. hydrothermalis* способен производить сополимер 3-гидроксипропаната и 3-гидроксивалерата. При этом при использовании валерата в качестве прекурсора доля 3НВ в сополимере достигла высоких значений — 50,15 мол.% [40].

При применении штамма *Bacillus thermoamylovorans* для получения ПГА из отработанного кулинарного масла при оптимальных условиях было получено  $3,5 \pm 0,1$  г/л полимера, что соответствует 87,5% сухой

массы клеток. Это было достигнуто путем внесения 4% (w/v) отработанного кулинарного масла в качестве источника углерода при температуре 45 °C и 150 об/мин в течение 48 ч при периодическом культивировании. В исследовании, полученный полимер П(ЗГВ-со-3ГВ) был использован в качестве сырья для биотоплива [41].

Сточные воды заводов по производству оливкового масла — один из основных побочных продуктов экстракции оливкового масла, вреден для окружающей среды, особенно для почвенных микроорганизмов и водных организмов.

Большинство средиземноморских стран-лидеров по производству оливкового масла страдают от экологических проблем, связанных со сточными водами заводов по производству оливковых масел [42–44]. В Испании количество отходов составляет 5 млн м<sup>3</sup>. Проблема также затрагивает Францию, Италию, Португалию, Турцию и Тунис [24].

Высокое содержание фенолов, высокая химическая потребность в кислороде и темный цвет делают проблематичным полезное использование сточных вод производства оливкового масла. Однако в этом отходе содержатся углеводы (примерно 60% от общего сухого веса), органические кислоты и минеральные питательные вещества, что делает его перспективным сырьем для производства ПГА [43].

Сточные воды скотобоев также могут стать потенциальным сырьем для получения ПГА. В результате исследований показано, что комбинацией штамма *C. necator* DSM 545 двумя последовательностями липазы, lipC и lipH из *Pseudomonas stutzeri* BT3, удалось получить штамм *C. necator* DSM 545 JR11, обладающий высокой внеклеточной липолитической активностью. *C. necator* DSM 545 JR11 позволил получить значительный выход полигидроксиалканоев (почти 65% от сухой массы клеток) из жира вымени, щековины и перепончатого кожного жира [45].

В России статистика по количеству сточных вод представлена укрупненно по всему сектору пищевого производства. За 2020 год объем сточных вод пищевых производств составил 16,9 млн м<sup>3</sup>. При этом, согласно отчету Федеральной службы государственной статистики (Росстат), затраты на сбор и очистку сточных вод составили 2073 млн рублей, а на обращение с отходами — 1180 млн рублей [46].

### 3.4. Отходы молочной промышленности: сыворотка

В России за 2020 г. было произведено порядка 177,8 тыс. тонн молочной сыворотки, что на 18,3% выше уровня предыдущего года. К крупнейшим российским производителям молочной сыворотки относят: АО «Данон Россия», АО «Вимм-Билль-Данн» (PepsiCo), ООО «КОМОС ГРУПП», ООО «Хохланд Руссланд», ГК «Молвест», ГК «Ренна». Сыворотка — богатая среда, отлично подходящая для роста микроорганизмов. Кроме того, отмечается значительное снижение уровня промышленной переработки сыворотки с получением сахара-сырца молочного, рафинированного, сгущенной сыворотки без сахара и с сахаром [47].

Однако проблемой использования сыворотки для получения ПГА выступает сложность ее прямого применения ввиду необходимости предварительной обработки и подбора штамма-продуцента [16]. Так, основные продуценты ПГА, такие как *Cupriavidus necator*, неспособны производить свойственные для них количества полимера (до 80% от своего сухого веса при росте на глюкозе) при росте на лактозе, выступающей преобладающим источником углерода в молочной, сырной сыворотках [16].

Решением проблемы выступает подготовка сыворотки с переводом лактозы в глюкозу и галактозу химическим или ферментативным путем. Однако в таком случае, возрастает конечная стоимость полимера, а следовательно такой способ может отрицательно сказаться на экономической эффективности процесса [16,48]. Таким образом, требуется обратить внимание на поиск «диких» штаммов, способных биосинтезировать большие количества ПГА на лактозе. Перспективным решением проблемы также может выступать генная модификация микроорганизмов. Технология рекомбинантных ДНК позволяет получить ПГА, сохранив при этом экономичность процесса. Однако при этом возникает ряд проблем, связанных с применением рекомбинантных организмов (проблема генетически модифицированных организмов (ГМО)) [49–51]. Для снижения затрат и экологических рисков также рассматривается возможность повторного использования сточных вод производства ПГА из сыворотки [52].

Получение ПГА из сыворотки также обеспечивают смешанные микробные культуры, преимуществом которых является их адаптивность к быстро меняющимся условиям, а также отсутствие необходимости стерилизации ростовой среды перед ферментацией [18,53]. При этом из смешанной культуры возможно выделение чистых культур, активно продуцирующих ПГА на исследуемом сырье.

Однако для эффективного отбора ПГА-аккумулирующих культур в смешанной культуре требуется легкодоступный источник азота [54]. Тем не менее, такой подход может позволить обнаружить новые штаммы-продуценты ПГА (так был обнаружен штамм-продуцент *L. mesenteroides*) [18].

### 3.5. Отходы переработки фруктов и овощей

Во всем мире ежегодно перерабатывается только 25% от общего объема отходов агропромышленного производства [55]. Среди отходов, образующихся в агропромышленности, отходы, получаемые из фруктов, имеют наибольший потенциал в качестве источников возобновляемой энергии, из которых можно извлекать ферменты, сахара, активированный уголь, разлагаемые пластиковые композиты, биосорбент, лекарства, биопестициды, поверхностно-активные вещества и многие другие продукты [55].

Согласно данным министерства сельского хозяйства России, ежегодно образуется более 770 млн т отходов в агропромышленном комплексе (АПК). Количество сельскохозяйственных отходов из общего числа АПК составляет 630–650 млн т. При этом количество органических отходов сельского хозяйства составляет 250 млн т., из которых 140 млн т. — отходы растениеводства, 30 млн т. — отходы пищевых и перерабатывающих заводов [56]. Однако известно, что в пищевой промышленности АПК образуется около 40 млн т. вторичных ресурсов и отходов производства, значительная часть которых вовлекается в производство новой продукции. Отходы переработки фруктов и овощей относятся к группе сельскохозяйственных пищевых отходов, но в настоящий момент точная оценка количества этих отходов не определена. Известно, что объем отходов консервации в плодоовощной промышленности составляет около 300 тыс. т. в год [56,57].

Фруктовые остатки или выжимки обычно состоят из кожицы, мякоти, плодоножек и семян и считаются отходами, не имеющими ценности. Как правило, твердая часть фруктовых остатков выбрасывается, используется в качестве корма для животных и редко применяется в приложениях с низким экономическим эффектом [58]. Сырье из фруктовых отходов является доступной альтернативой ископаемым ресурсам, поскольку оно не вступает в прямую конкуренцию с пищевой цепочкой [59]. Кроме того, отходы фруктов и овощей — экономически доступны, так как являются кухонным отходом, образующимся во многих домах, ресторанах, магазинах, кафе [60].

Цитрусовые фрукты, включая лимоны, апельсины, грейпфруты и мандарины, являются широко распространенным видом продукции с мировым производством почти 120 миллионов тонн в год. После переработки сока 50% сырья превращается в отходы. Средний состав сухой массы этих остатков содержит: 30% сахаров (фруктоза, глюкоза, сахароза), 12% целлюлозы, 12% гемицеллюлозы, 19% пектина, а остальное — смесь флавоноидов, органических кислот, белков, золь и масла [58].

Сообщается об успешном производстве ПГА из кожуры апельсина с добавлением питательных веществ (экстракта говядины и натрия) с использованием *Bacillus subtilis*, выращенной на оптимизированной среде. Максимальный выход ПГА составил 5,09 г/л в оптимизированной среде с 0,72 г/л хлорида натрия и 2,23 г/л говяжьего экстракта при инкубации в течение 48 ч. [61]. Кожура граната также рассматривалась в качестве сырья для получения ПГА, при этом исследователи выделяли дикие штаммы из загрязненной почвы свалок. Сравнение продуктивности классического штамма *S. necator* и восьми выделенных штаммов показало, что выделенный штамм *Bacillus halotolerans* DSM8802 на коже граната в качестве субстрата смог обеспечить выход 83% ПГА, в то время как *S. necator* только 60% [60].

Перспективным сырьем для получения ПГА также могут выступать отходы винограда. Обнаружено, что *Cupriavidus necator* может производить ПГБ, используя масло и ферментируемые сахара, полурасщепленные из выжимки винограда [32]. Так, показано, что виноград сорта Солярис является очень перспективным субстратом для выращивания бактерий с целью получения среднецепочечных ПГА, в связи с высоким содержанием в нем глюкозы (106 г/л). Была проведена двухступенчатая ферментация с использованием *Pseudomonas resinovorans* в качестве субстрата, а также его добавление в виде отработанного масла для жарки как прекурсора для среднецепочечных ПГА, выход достиг 21.3 г ПГА/л жмыха. Однако требуется учитывать высокое содержание лигнина в виноградном жмыхе, до 30% по сухой массе [62].

Отходы переработки яблок также рассматриваются в качестве сырья для производства полигидроксиалканоев. Так, штаммы *Pseudomonas*, выращенные на отходах яблочной мякоти, производят

ПГА с высоким содержанием полимера, с конкурентоспособными тепловыми и механическими свойствами [63,64].

Состав фруктов и их отходов может значительно отличаться друг от друга, однако для производства ПГА могут использоваться любые фрукты с достаточным количеством углеводов. Учитывая, что в состав фруктов входят сложные сахара, требуется предварительная подготовка отходов фруктов методами ферментации и гидролиза, для получения легко усваиваемых микроорганизмами простых сахаров. Тем не менее, рост микроорганизмов может быть ингибирован наличием фенолов в составе субстрата [65]. Значительные выходы ПГА с различным составом, в том числе, среднецепочечные ПГА, могут быть получены при применении смешанных культур в трехстадийном процессе [65–67]:

- 1) ацидогенная ферментация для преобразования органического углерода в растворимые продукты ферментации (РПФ), которые являются предшественниками для биосинтеза ПГА;
- 2) отбор обогащенной культуры, продуцирующей ПГА;
- 3) накопление ПГА, когда ранее отобранная культура питается РПФ и накапливает ПГА до максимальных выходов.

При получении богатого капроатами фильтрата на стадии ферментации с последующим подбором культуры, способной переводить капроаты в 3-гидроксигексаноат (ННх), удалось достигнуть крайне высоких выходов полимера 71,3%, а именно терполимера с составом 33/1/66 (3-гидроксibuтират (ЗГБ)/3-гидроксивалерат (ЗГВ)/3-гидроксигексаноат (ЗГТ), % масс.) [67].

### 3.6. Отходы сахарной и крахмальной промышленности

К отходам сахарной и крахмальной промышленности относят: свеколочные хвостики, бой свеклы, жом, мелассу, багассу, мезгу, кукурузный экстракт и другие. Включая сточные воды, ежегодно в России образуется около 60 млн т. Отходов сахарной промышленности. Количество свеколочного жома в России оценивается как 9 млн т в год [56,68].

Самые высокие показатели производства (с точки зрения внутриклеточного накопления РНА) обычно достигаются при использовании чистых сахаров (т. е. глюкозы), а затем альтернативного сырья с высоким содержанием углеводов, такого как маниока и сахарный тростник. Такие крахмалистые материалы из сельскохозяйственных культур или сточных производственных вод выступают перспективными субстратами, поскольку имеют низкую стоимость, характеризуются возобновляемостью и доступностью на местном уровне [22].

Багасса сахарного тростника используется для выработки электроэнергии и производства этанола второго поколения в промышленных масштабах, поэтому реже рассматривается в качестве сырья для получения ПГА [69]. Однако исследования штамма *Burkholderia sacchari* показали, что возможно получить 105 г/л Р(ЗНВ) при использовании гидролизата багассы сахарного тростника, богатого глюкозой, ксилитом и арабинозой [70].

Благодаря высокому содержанию сахарозы и небольшому количеству глюкозы и фруктозы меласса широко используется в качестве дешевого источника углерода в процессе производства биотоплива и биополимеров [71]. Тростниковая меласса эффективно применялась как сырье для получения ПГА с использованием почвенной бактерии *Pseudomonas aeruginosa*, были достигнуты следующие показатели: максимальная клеточная масса  $7,32 \pm 0,21$  г/л и концентрация ПГА  $5,60 \pm 0,3$  г/л через 54 ч. культивирования. Также было выявлено, что мочевины является более эффективным источником азота по сравнению с другими неорганическими альтернативами, и при ее добавлении к мелассе значительно увеличивается выхода продукта, что повышает экономичность процесса [72].

Сравнение мелассы с другими отходами АПК (сточные воды бумажного и молочного производств) показало, что значительную роль играет предварительная обработка сырья. Так, при оптимальных условиях для инкубирования штамма *Bacillus subtilis* RS1 (время инкубации 48 ч; pH 7; инокулят 10% v/v) и предварительной подготовке сырья (доведение pH до 3, центрифугирование, автоклавирование) удалось достигнуть высоких показателей выхода полимера — 70,5% [73]. Результаты сравнения мелассы, оливкового масла и их смеси в качестве субстрата для *S. necator* показали, что совместное использование двух субстратов позволяет получить больший выход вещества (40% в сравнении с 24,35% для мелассы и с 18,66% для оливкового масла). Максимальное содержание ПГА при использовании комбинации субстратов составило 2,03 г/л по сравнению с мелассой (1,41 г/л) и оливковым маслом (1,12 г/л). Кроме того, отмечаются способности штамма расти на сложных субстратах из отходов [9].

Несмотря на то, что меласса отличается высокой концентрацией сахаров и микроэлементов (кальция, фосфора, биотина, ниацина и рибофлавина) и активно рассматривается в качестве сырья для



получения ПГА, следует учитывать, что она также характеризуется дефицитом основных минералов, таких как кобальт и селен, которые повышают активность фермента ПГБ-синтазы [69]. Кроме того, отмечается влияние режима питания на состав и свойства полимера. Так, в случае с мелассой сахарного тростника, на выход и состав ПГА влияют тип и концентрация органических кислот в ферментированной мелассе [75]. Таким образом, использование мелассы для производства ПГА может быть экономически эффективным, но требует тщательного внимания к составу субстрата и режиму питания для достижения оптимальных выходов и свойств полимера.

### 3.7. Отходы производства кофе

Кофе является вторым по величине продаваемым в мире товаром, его производство достигло 167,17 миллионов тонн в 2021 году, при этом на всех стадиях процесса переработки от плодов кофе до напитка в стакане или чашке образуется огромное количество отходов. Годовые отходы кофе, по оценкам исследователей, превышают 23 миллиона тонн в год [29,76].

Твердые отходы производства кофе включают в себя: кофейную пульпу, кофейную шелуху, отработанный кофе (отработанную кофейную гущу (Spent coffee grounds (SCG)). Отходы кофе являются недорогим сырьем, содержащим жирные кислоты, богатым полифенолами, каротиноидами и органическими кислотами [77].

Отработанная кофейная гуща содержит от 11 до 20% кофейного масла, характеризуется высоким содержанием свободных жирных кислот, которые могут быть легко использованы микроорганизмами в питании [78]. Выход ПГБ при применении штамма *Cupriavidus necator H16* при периодическом режиме культивирования достиг 89,1 масс% (1,33 г/(л\*ч)) [28]. Кофейный жмых и кофейное масло рассматриваются как сырье для производства биодизеля, однако высокое содержание свободных жирных кислот порождает проблемы при его производстве, в то время как для биосинтеза ПГБ наличие таких кислот является значительным преимуществом. В то же время кофейный жмых может быть полезно утилизирован в энергию без значительной потери энергетической ценности после отжима масла, а следовательно, возможно совмещение производства ПГБ из кофейного масла и получения дополнительной энергии из кофейных пеллет, что может снизить стоимость производства полимера. Кроме того, высокое содержание свободных жирных кислот затрудняет изготовление биодизеля, поэтому использование извлеченного кофейного масла для производства ПГА является выгодным [76].

Кофейное масло показывает положительные результаты при добавлении его в основной субстрат при биосинтезе полимера. Сокультивирование *Lysinibacillus sp. RGS* и *Ralstonia eutropha ATCC17699* на субстрате из жмыха сахарного тростника с добавлением кукурузного крутого ликёра (corn steep liquor (CSL)) и отработанного экстрагированного масла из кофейных отходов (spent coffee waste extracted oil (SCGO)) позволило получить максимальный рост культуры и выход полимера (11,68 и 11,0 г/л), накопление ПГА (76% и 76%) [30]. Показательна и эффективность применения двух культур, производящих ПГА с различной метаболической активностью, что может рассматриваться как жизнеспособный вариант для достижения более высокой производительности ПГА. Для получения ПГА из экстрагированного масла отработанной кофейной гущи использовался штамм *Pseudomonas resinovorans*, сухой вес клеток составлял 5,4 г/л, РНА — 1,6 г/л, а содержание РНА — 29,5% через 24 часа [29].

Однако использование кофейных отходов в качестве сырья для получения ПГА имеет ряд сложностей. Так, выявлено, что метод заваривания кофе влияет на содержание биоактивных соединений в SCG, что может повлиять на качество получаемого ПГА [79]. Также отработанная кофейная гуща содержит в себе микробные ингибиторы, которые могут препятствовать производству ПГА, а для стимулирования ферментации необходима детоксикация гидролизатов отработанной кофейной гущи [27].

Гидролизат отработанной кофейной гущи содержит леулиновую кислоту, которая служит предшественником для биосинтеза ПГА, но также содержит полифенолы, которые снижают выход полимера. Как решение данной проблемы предлагается экстракция полифенолов этанолом. Кроме того, отмечается, что использование кофейного масла, полученного из отработанной кофейной гущи, позволяет повысить выход ПГА, что, вероятно, связано с высоким содержанием свободных жирных кислот в масле [80].

### 4. Выводы

Из-за обостряющейся проблемы накопления пластиковых отходов, в качестве более экологичного полимера рассматриваются биоразлагаемые полимеры, такие как полигидроксисилканоаты. Хотя РНА и их сополимеры вызвали значительный интерес научного сообщества благодаря своему структурному разнообразию и сходству механических свойств (например, прочности, жесткости и гибкости) с традиционными аналогами, высокая стоимость производства ограничивает крупномасштабное изготовление этих биополимеров. Основные затраты производства ПГА связываются с сырьем, в качестве которого используется чистая глюкоза. Для снижения стоимости полимера рассматривается возможность использования вторичного сырья — отходов пищевого производства и агропромышленного комплекса. Проведенное исследование позволило визуализировать и выявить три основных направления научных исследований ПГА, а также их получения из пищевых отходов:

1. Исследование и изучение ПГА, лабораторное получение полимера, его сополимеров и оценка их механических свойств.
2. Пищевые отходы как сырье для получения ПГА: изучение видов, улучшение качества сырья, валоризация.
3. Вызовы и эффекты применения ПГА, производство полимера, противопоставление или сравнение с пластиками.

В ходе детального анализа научных публикаций, были установлены основные достижения в сфере получения ПГА из пищевых отходов, выявлены сложности использования конкретного типа вторичного сырья и определены основные штаммы-продуценты ПГА для каждого типа сырья. Так, к наиболее перспективному сырью для получения ПГА можно отнести: органические отходы, богатые липидами (отходы производства растительных масел), отходы фруктов и овощей, молочную сыворотку, отходы сахарной и крахмальной промышленности (меласса, багасса), отходы кофе (отработанная кофейная гуща, экстрагированные из нее кофейные масла), а также сточные воды пищевых производств. Однако для широкого внедрения вторичного сырья в промышленное производство ПГА требуются дальнейшие исследования, направленные на поиск способов повышения выхода полимера, в том числе, за счет предварительной подготовки вторичного сырья путем гидролиза и ферментации. Также необходимо выявление эффективных штаммов-продуцентов ПГА и создание оптимальных условий получения полимера.

## БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Sirohi, R., Pandey, J.P., Gaur, V.K., Gnansounou, E., Sindhu, R. (2020). Critical overview of biomass feedstocks as sustainable substrates for the production of polyhydroxybutyrate (PHB). *Bioresource Technology*, 311, Article 123536. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2020.123536>
2. Pakalapati, H., Chang, C.-K., Show, P. L., Arumugasamy, S. K., Lan, J. C.-W. (2018). Development of polyhydroxyalkanoates production from waste feedstocks and applications. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 126(3), 282–292. <https://doi.org/10.1016/j.jbiosc.2018.03.016>
3. Polyhydroxyalkanoate Market Size and Share Analysis — Growth Trends and Forecasts (2024–2029) Retrieved from <https://www.mordorintelligence.com/industry-reports/polyhydroxyalkanoate-market> Accessed September 18, 2023
4. Markets and Markets. (2022). Global Polyhydroxyalkanoate (PHA) Market by Type (Short chain length, Medium Chain Length), Production Methods (Sugar Fermentation, Vegetable Oil Fermentation), Application (Packaging and Food Services, Biomedical) and Region — Global Forecast to 2027. Retrieved from <https://www.researchandmarkets.com/reports/5241294/global-polyhydroxyalkanoate-pha-market-by> Accessed September 18, 2023
5. Пресс-служба Министерства сельского хозяйства Российской Федерации: Завод по производству биопластика из пшеницы построят в ОЭЗ «Липецк». (2019). Министерство сельского хозяйства Российской Федерации. Электронный ресурс <https://mcx.gov.ru/press-service/regions/zavod-po-proizvodstvu-bioplastika-iz-pshenitsy-postroyat-v-oez-lipetsk/>. Дата доступа 25.09.2023
6. Dalton, B., Bhagabati, P., De Micco, J., Padamati, R. B., O'Connor, K. (2022). A review on biological synthesis of the biodegradable polymers polyhydroxyalkanoates and the development of multiple applications. *Catalysts*, 12(5), Article 319. <https://doi.org/10.3390/catal12050319>
7. Koller, M., Gasser, I., Schmid, F., Berg, G. (2011). Linking ecology with economy: Insights into polyhydroxyalkanoate-producing microorganisms. *Engineering in Life Sciences*, 11(3), 222–237. <https://doi.org/10.1002/elsc.201000190>
8. Kannah, R.Y., Kumar, M.D., Kavitha, S., Banu, J.R., Tyagi, V.K., Rajaguru, P. et al. (2022). Production and recovery of polyhydroxyalkanoates (PHA) from waste streams — A review. *Bioresource Technology*, 366, Article 128203. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2022.128203>
9. Allegue, L. D., Ventura, M., Melero, J. A., Puyol, D. (2022). Unraveling PHA production from urban organic waste with purple phototrophic bacteria via organic overload. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 166, Article 112687. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2022.112687>
10. Rajvanshi, J., Sogani, M., Kumar, A., Arora, S., Syed, Z., Sonu, K. et al. (2023). Perceiving biobased plastics as an alternative and innovative solution to combat

- plastic pollution for a circular economy. *Science of The Total Environment*, 874, Article 162441. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2023.162441>
11. Saratale, R. G., Cho, S.-K., Kadam, A. A., Ghodake, G. S., Kumar, M., Bharagava, R. N. et al. (2022). Developing microbial co-culture system for enhanced Polyhydroxyalkanoates (PHA) production using acid pretreated lignocellulosic biomass. *Polymers*, 14(4), Article 726. <https://doi.org/10.3390/polym14040726>
  12. Park, S. J., Ahn, W. S., Green, P. R., Lee, S. Y. (2001). Biosynthesis of poly(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate-co-3-hydroxyhexanoate) by metabolically engineered *Escherichia coli* strains. *Biotechnology and Bioengineering*, 74(1), 82–87. <https://doi.org/10.1002/bit.1097>
  13. Amini, M., Yousefi-Masumabad, H., Younesi, H., Abyar, H., Bahramifar, N. (2020). Production of the polyhydroxyalkanoate biopolymer by *Cupriavidus necator* using beer brewery wastewater containing maltose as a primary carbon source. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 8(1), Article 103588. <https://doi.org/10.1016/j.jece.2019.103588>
  14. Rangel, C., Carvalho, G., Oehmen, A., Frison, N., Lourenço, N. D., Reis, M. A. M. (2023). Polyhydroxyalkanoates production from ethanol- and lactate-rich fermentate of confectionary industry effluents. *International Journal of Biological Macromolecules*, 229, 713–723. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2022.12.268>
  15. Tamis, J., Lužkov, K., Jiang, Y., van Loosdrecht, M. C. M., Kleerebezem, R. (2014). Enrichment of *Plasticumulans acidivorans* at pilot-scale for PHA production on industrial wastewater. *Journal of Biotechnology*, 192(A), 161–169. <https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2014.10.022>
  16. Amaro, T. M. M. M., Rosa, D., Comi, G., Iacumin, L. (2019). Prospects for the use of whey for Polyhydroxyalkanoate (PHA) production. *Frontiers in Microbiology*, 10, Article 992. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.00992>
  17. Berwig, K. H., Baldasso, C., Dettmer, A. (2016). Production and characterization of poly(3-hydroxybutyrate) generated by *Alcaligenes latus* using lactose and whey after acid protein precipitation process. *Bioresource Technology*, 218, 31–37. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2016.06.067>
  18. Bosco, F., Cirrincione, S., Carletto, R., Marmo, L., Chiesa, F., Mazzoli, R. et al. (2021). PHA production from cheese whey and “Scotta”: Comparison between a consortium and a pure culture of *Leuconostoc mesenteroides*. *Microorganisms*, 9(12), Article 2426. <https://doi.org/10.3390/microorganisms9122426>
  19. Israni, N., Venkatachalam, P., Gajaraj, B., Varalakshmi, K. N., Shivakumar, S. (2020). Whey valorization for sustainable polyhydroxyalkanoate production by *Bacillus megaterium*: Production, characterization and in vitro biocompatibility evaluation. *Journal of Environmental Management*, 255, Article 109884. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2019.109884>
  20. Costa, S. G. V. A. O., Lépine, F., Milot, S., Déziel, E., Nitschke, M., Contiero, J. (2009). Cassava wastewater as a substrate for the simultaneous production of rhamnolipids and polyhydroxyalkanoates by *Pseudomonas aeruginosa*. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, 36(8), 1063–1072. <https://doi.org/10.1007/s10295-009-0590-3>
  21. Salgaonkar, B. B., Mani, K., Bragança, J. M. (2019). Sustainable bioconversion of cassava waste to Poly(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate) by Halogeometricum borinquense strain E3. *Journal of Polymers and the Environment*, 27(2), 299–308. <https://doi.org/10.1007/s10924-018-1346-9>
  22. Hierro-Iglesias, C., Chimphango, A., Thornley, P., Fernández-Castané, A. (2022). Opportunities for the development of cassava waste biorefineries for the production of polyhydroxyalkanoates in Sub-Saharan Africa. *Biomass and Bioenergy*, 166, Article 106600. <https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2022.106600>
  23. Chaleomrum, N., Chookietwattana, K., Dararat, S. (2014). Production of PHA from cassava starch wastewater in sequencing batch reactor treatment system. *APCBEE Procedia*, 8, 167–172. <https://doi.org/10.1016/j.apcb.2014.03.021>
  24. Pozo, C., Martínez-Toledo, M. V., Rodelas, B., González-López, J. (2002). Effects of culture conditions on the production of polyhydroxyalkanoates by *Azotobacter chroococcum* H23 in media containing a high concentration of alpechin (wastewater from olive oil mills) as primary carbon source. *Journal of Biotechnology*, 97(2), 125–131. [https://doi.org/10.1016/S0168-1656\(02\)00056-1](https://doi.org/10.1016/S0168-1656(02)00056-1)
  25. Beccari, M., Bertin, L., Dionisi, D., Fava, F., Lampis, S., Majone, M. et al. (2009). Exploiting olive oil mill effluents as a renewable resource for production of biodegradable polymers through a combined anaerobic-aerobic process: Bio-production of PHA from olive mill effluents. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, 84(6), 901–908. <https://doi.org/10.1002/jctb.2173>
  26. Cerrone, F., Sánchez-Peinado M. del, M., Juárez-Jimenez, B., González-López, J., Pozo, C. (2010). Biological treatment of two-phase olive mill wastewater (TPOMW, alpeorujo): Polyhydroxyalkanoates (PHAs) production by *Azotobacter* strains. *Journal of Microbiology and Biotechnology*, 20(3), 594–601.
  27. Kovalcik, A., Kucera, D., Matouskova, P., Pernicova, I., Obruca, S., Kalina, M. et al. (2018). Influence of removal of microbial inhibitors on PHA production from spent coffee grounds employing *Halomonas halophila*. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 6(2), 3495–3501. <https://doi.org/10.1016/j.jece.2018.05.028>
  28. Obruca, S., Petrik, S., Benesova, P., Svoboda, Z., Eremka, L., Marova, I. (2014). Utilization of oil extracted from spent coffee grounds for sustainable production of polyhydroxyalkanoates. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 98(13), 5883–5890. <https://doi.org/10.1007/s00253-014-5653-3>
  29. Kang, B.-J., Jeon, J.-M., Bhatia, S. K., Kim, D.-H., Yang, Y.-H., Jung, S. et al. (2023). Two-stage bio-hydrogen and polyhydroxyalkanoate production: Upcycling of spent coffee grounds. *Polymers*, 15(3), Article 681. <https://doi.org/10.3390/polym15030681>
  30. Saratale, R.G., Cho, S.-K., Saratale, G.D., Kadam, A. A., Ghodake, G. S., Kumar, M. et al. (2021). A comprehensive overview and recent advances on polyhydroxyalkanoates (PHA) production using various organic waste streams. *Bioresource Technology*, 325, Article 124685. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2021.124685>
  31. Follonier, S., Goyder, M. S., Silvestri, A.-C., Crelier, S., Kalman, F., Riesen, R. et al. (2014). Fruit pomace and waste frying oil as sustainable resources for the bioproduction of medium-chain-length polyhydroxyalkanoates. *International Journal of Biological Macromolecules*, 71, 42–52. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2014.05.061>
  32. Kovalcik, A., Pernicova, I., Obruca, S., Sztokowski, M., Enev, V., Kalina, M. et al. (2020). Grape winery waste as a promising feedstock for the production of polyhydroxyalkanoates and other value-added products. *Food and Bioprocess Technology*, 124, 1–10. <https://doi.org/10.1016/j.fbp.2020.08.003>
  33. Verlinden, R. A., Hill, D. J., Kenward, M. A., Williams, C. D., Piotrowska-Seget, Z., Radecki, I. K. (2011). Production of polyhydroxyalkanoates from waste frying oil by *Cupriavidus necator*. *AMB Express*, 1(1), Article 11. <https://doi.org/10.1186/2191-0855-1-11>
  34. Costa, C. F. F. A., Amorim, C. L., Duque, A. F., Reis, M. A. M., Castro, P. M. L. (2022). Valorization of wastewater from food industry: Moving to a circular bio-economy. *Reviews in Environmental Science and Bio/Technology*, 21(1), 269–295. <https://doi.org/10.1007/s11157-021-09600-1>
  35. Mannina, G., Presti, D., Montiel-Jarillo, G., Carrera, J., Suárez-Ojeda, M. E. (2020). Recovery of polyhydroxyalkanoates (PHAs) from wastewater: A review. *Bioresource Technology*, 297, Article 122478. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2019.122478>
  36. Gecim, G., Aydin, G., Tavsanoglu, T., Erkok, E., Kalemtaş, A. (2021). Review on extraction of polyhydroxyalkanoates and astaxanthin from food and beverage processing wastewater. *Journal of Water Process Engineering*, 40, Article 101775. <https://doi.org/10.1016/j.jwpe.2020.101775>
  37. Sanli, H., Canakci, M., Alptekin, E. (May 12–13, 2011). *Characterization of waste frying oils obtained from different facilities*. World Renewable Energy Congress – Sweden. Linköping, 2011. <https://doi.org/10.3384/ecp11057479>
  38. Nitin, S. (2017). Investigation of waste frying oil as a green alternative fuel: An approach to reduce NOx emission. Chapter in a book: *Biofuels and Bioenergy* (BICE2016). Springer International Publishing, 2017. [https://doi.org/10.1007/978-3-319-47257-7\\_11](https://doi.org/10.1007/978-3-319-47257-7_11)
  39. Ciesielski, S., Możejko, J., Pisutpaisal, N. (2015). Plant oils as promising substrates for polyhydroxyalkanoates production. *Journal of Cleaner Production*, 106, 408–421. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2014.09.040>
  40. Pernicova, I., Kucera, D., Nebesarova, J., Kalina, M., Novackova, I., Koller, M. et al. (2019). Production of polyhydroxyalkanoates on waste frying oil employing selected *Halomonas* strains. *Bioresource Technology*, 292, Article 122028. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2019.122028>
  41. Sangkharak, K., Khaithongkaeo, P., Chuaikhunapakarn, T., Choonut, A., Prasertsan, P. (2021). The production of polyhydroxyalkanoate from waste cooking oil and its application in biofuel production. *Biomass Conversion and Biorefinery*, 11(5), 1651–1664. <https://doi.org/10.1007/s13399-020-00657-6>
  42. Dermeche, S., Nadour, M., Larroche, C., Mouliti-Mati, F., Michaud, P. (2013). Olive mill wastes: Biochemical characterizations and valorization strategies. *Process Biochemistry*, 48(10), 1532–1552. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2013.07.010>
  43. Dionisi, D., Carucci, G., Papini, M. P., Riccardi, C., Majone, M., Carrasco, F. (2005). Olive oil mill effluents as a feedstock for production of biodegradable polymers. *Water Research*, 39(10), 2076–2084. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2005.03.011>
  44. Ntaikou, I., Peroni, C.V., Kourmentza, C., Ilieva, V. I., Morelli, A., Chiellini, E. et al. (2014). Microbial bio-based plastics from olive-mill wastewater: Generation and properties of polyhydroxyalkanoates from mixed cultures in a two-stage pilot scale system. *Journal of Biotechnology*, 188, 138–147. <https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2014.08.015>
  45. Rodríguez G., J. E., Brojanigo, S., Basaglia, M., Favaro, L., Casella, S. (2021). Efficient production of polyhydroxybutyrate from slaughterhouse waste using a recombinant strain of *Cupriavidus necator* DSM 545. *Science of The Total Environment*, 794, Article 148754. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.148754>
  46. Основные показатели охраны окружающей среды. Статистический бюллетень. (2021). Федеральная служба государственной статистики (Росстат), Москва, 2021.
  47. Бережная, Е.А. (2021). Современное состояние и перспективы переработки молочной сыворотки. *Вестник науки*, 3(1(34)), 131–135.
  48. Zotta, T., Solieri, L., Iacumin, L., Picozzi, C., Gullo, M. (2020). Valorization of cheese whey using microbial fermentations. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 104(7), 2749–2764. <https://doi.org/10.1007/s00253-020-10408-2>
  49. Akhlaq, S., Singh, D., Mittal, N., Srivastava, G., Siddiqui, S., Faridi, S. A. et al. (2023). Polyhydroxybutyrate biosynthesis from different waste materials, degradation, and analytic methods: A short review. *Polymer Bulletin*, 80(6), 5965–5997. <https://doi.org/10.1007/s00289-022-04406-9>
  50. Batcha, A. F. M., Prasad, D. M. R., Khan, M. R., Abdullah, H. (2014). Biosynthesis of poly(3-hydroxybutyrate) (PHB) by *Cupriavidus necator* H16 from jatropha oil as carbon source. *Bioprocess and Biosystems Engineering*, 37(5), 943–951. <https://doi.org/10.1007/s00449-013-1066-4>
  51. Bholia, S., Arora, K., Kulshrestha, S., Mehariya, S., Bhatia, R. K., Kaur, P. et al. (2021). Established and emerging producers of PHA: Redefining the possibility. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 193(11), 3812–3854. <https://doi.org/10.1007/s12010-021-03626-5>
  52. Koller, M. (2015). Recycling of Waste streams of the biotechnological Poly(hydroxyalkanoate) production by *haloferax mediterranei* on whey. *International Journal of Polymer Science*, 2015, Article 370164. <https://doi.org/10.1155/2015/370164>
  53. Gahlawat, G., Kumari, P., Bhagat, N. R. (2020). Technological advances in the production of Polyhydroxyalkanoate biopolymers. *Current Sustainable/Renewable Energy Reports*, 7(3), 73–83. <https://doi.org/10.1007/s40518-020-00154-4>
  54. Oliveira, C. S. S., Silva, M. O. D., Silva, C. E., Carvalho, G., Reis, M. A. M. (2018). Assessment of protein-rich cheese whey waste stream as a nutrients source for low-cost mixed microbial PHA production. *Applied Sciences*, 8(10), Article 1817. <https://doi.org/10.3390/app8101817>
  55. Kee, S. H., Ganeson, K., Rashid, N. F. M., Yatim, A. F. M., Vigneswari, S., Amirul, A.-A. et al. (2022). A review on biorefining of palm oil and sugar cane agro-industrial residues by bacteria into commercially viable bioplastics and biosurfactants. *Fuel*, 321, Article 124039. <https://doi.org/10.1016/j.fuel.2022.124039>
  56. Ветошкин, А. Г. (2019). Техника и технология обращения с отходами жизнедеятельности: Учебное пособие. В 2-х частях. Ч. 2. Переработка и утилизация промышленных отходов. Москва, Вологда: Инфра-Инженерия, 2019.

57. Комарова, Е.В., Буряков, А.В., Суржко, О.А. (2017). Получение биогаза из отходов плодовоощных консервных заводов. *Инновационная наука*, 5, 58–61.
58. Andler, R., Valdés, C., Urtuvia, V., Andreeßen, C., Díaz-Barrera, A. (2021). Fruit residues as a sustainable feedstock for the production of bacterial polyhydroxyalkanoates. *Journal of Cleaner Production*, 307, Article 127236. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2021.127236>
59. Govil, T., Wang, J., Samanta, D., David, A., Tripathi, A., Rauniyar, S. et al. (2020). Lignocellulosic feedstock: A review of a sustainable platform for cleaner production of nature's plastics. *Journal of Cleaner Production*, 270, Article 122521. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2020.122521>
60. Rayasam, V., Chavan, P., Kumar, T. (2020). Polyhydroxyalkanoate synthesis by bacteria isolated from landfill and ETP with pomegranate peels as carbon source. *Archives of Microbiology*, 202(10), 2799–2808. <https://doi.org/10.1007/s00203-020-01995-9>
61. Umesh, M., Sankar, S. A., Thazeem, B. (2021). Fruit Waste as Sustainable Resources for Polyhydroxyalkanoate (PHA) Production. Chapter in a book: *Bioplastics for Sustainable Development*. Springer, Singapore, 2021. [https://doi.org/10.1007/978-981-16-1823-9\\_7](https://doi.org/10.1007/978-981-16-1823-9_7)
62. Basso, D., Weiss-Hortala, E., Patuzzi, F., Baratieri, M., Fiori, L. (2018). In deep analysis on the behavior of grape marc constituents during hydrothermal carbonization. *Energies*, 11(6), Article 1379. <https://doi.org/10.3390/en11061379>
63. Rebocho, A. T., Pereira, J. R., Freitas, F., Neves, L. A., Alves, V. D., Sevrin, C. et al. (2019). Production of medium-chain length polyhydroxyalkanoates by *Pseudomonas citronellolis* grown in apple pulp waste. *Applied Food Biotechnology*, 6(1), 71–82. <https://doi.org/10.22037/afb.v6i1.21793>
64. Pereira, J. R., Araújo, D., Freitas, P., Marques, A. C., Alves, V. D., Sevrin, C. et al. (2021). Production of medium-chain-length polyhydroxyalkanoates by *Pseudomonas chlororaphis* subsp. *aurantiaca*: Cultivation on fruit pulp waste and polymer characterization. *International Journal of Biological Macromolecules*, 167, 85–92. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.11.162>
65. Umesh, M., Sarojini, S., Choudhury, D.D., Santhosh, A.S., Kariyadan, S. (2023). Food waste valorization for bioplastic production. Chapter in a book: *Waste valorization for value-added products*. Bentham Science Publishers, 2023. <https://doi.org/10.2174/9789815123074123010013>
66. Matos, M., Cruz, R. A. P., Cardoso, P., Silva, F., Freitas, E. B., Carvalho, G. et al. (2021). Combined strategies to boost polyhydroxyalkanoate production from fruit waste in a three-stage pilot plant. *ACS Sustainable Chemistry and Engineering*, 9(24), 8270–8279. <https://doi.org/10.1021/acssuschemeng.1c02432>
67. Silva, F., Matos, M., Pereira, B., Ralo, C., Pequito, D., Marques, N. et al. (2022). An integrated process for mixed culture production of 5-hydroxyhexanoate-rich polyhydroxyalkanoates from fruit waste. *Chemical Engineering Journal*, 427, Article 131908. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2021.131908>
68. Балабина, И. П., Проценко, Е. П., Алферова, Е. Ю., Косолапова, Н. И., Мирошниченко, О. В. (2019). Утилизация органических отходов от сахарной промышленности компостированием. *Экология урбанизированных территорий*, 4, 27–33. <https://doi.org/10.24411/1816-1863-2019-14027>
69. De Melo, R. N., de Souza Hassemer, G., Steffens, J., Junges, A., Valduga, E. (2023). Recent updates to microbial production and recovery of polyhydroxyalkanoates. *3 Biotech*, 13(6), Article 204. <https://doi.org/10.1007/s13205-023-03633-9>
70. Cesário, M. T., Raposo, R. S., de Almeida, M. C. M. D., van Keulen, F., Ferreira, B. S., da Fonseca, M. M. R. (2014). Enhanced bioproduction of poly-3-hydroxybutyrate from wheat straw lignocellulosic hydrolysates. *New Biotechnology*, 31(1), 104–113. <https://doi.org/10.1016/j.nbt.2013.10.004>
71. Zhang, L., Jiang, Z., Tsui, T.-H., Loh, K.-C., Dai, Y., Tong, Y. W. (2022). A review on enhancing *Cupriavidus necator* fermentation for Poly(3-hydroxybutyrate) (PHB) production from low-cost carbon sources. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 10, Article 946085. <https://doi.org/10.3389/fbioe.2022.946085>
72. Tripathi, A. D., Yadav, A., Jha, A., Srivastava, S. K. (2012). Utilizing of sugar refinery waste (Cane Molasses) for production of bio-plastic under submerged fermentation process. *Journal of Polymers and the Environment*, 20(2), 446–453. <https://doi.org/10.1007/s10924-011-0394-1>
73. Rathika, R., Janaki, V., Shanthi, K., Kamala-Kannan, S. (2019). Bioconversion of agro-industrial effluents for polyhydroxyalkanoates production using *Bacillus subtilis* RS1. *International Journal of Environmental Science and Technology*, 16(10), 5725–5734. <https://doi.org/10.1007/s13762-018-2155-3>
74. Razaq, S., Shahid, S., Farooq, R., Noreen, S., Perveen, S., Bilal, M. (2022). Sustainable bioconversion of agricultural waste substrates into poly (3-hydroxyhexanoate) (mcl-PHA) by *Cupriavidus necator* DSM 428. *Biomass Conversion and Biorefinery*. <https://doi.org/10.1007/s13399-022-03194-6>
75. Albuquerque, M. G. E., Martino, V., Pollet, E., Avérous, L., Reis, M. A. M. (2011). Mixed culture polyhydroxyalkanoate (PHA) production from volatile fatty acid (VFA)-rich streams: Effect of substrate composition and feeding regime on PHA productivity, composition and properties. *Journal of Biotechnology*, 151(1), 66–76. <https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2010.10.070>
76. Garcia, C. V., Kim, Y.-T. (2021). Spent coffee grounds and coffee silverskin as potential materials for packaging: A review. *Journal of Polymers and the Environment*, 29(8), 2372–2384. <https://doi.org/10.1007/s10924-021-02067-9>
77. Sisti, L., Celli, A., Totaro, G., Cinelli, P., Signori, F., Lazzeri, A. et al. (2021). Monomers, materials and energy from coffee by-products: A review. *Sustainability*, 13(12), Article 6921. <https://doi.org/10.3390/su13126921>
78. Al-Hamamre, Z., Foerster, S., Hartmann, F., Kröger, M., Kaltschmitt, M. (2012). Oil extracted from spent coffee grounds as a renewable source for fatty acid methyl ester manufacturing. *Fuel*, 96, 70–76. <https://doi.org/10.1016/j.fuel.2012.01.023>
79. Glowacka, R., Górska, A., Wirkowska-Wojdyła, M., Wołosiak, R., Majewska, E., Derewiaka, D. (2019). The influence of brewing method on bioactive compounds residues in spent coffee grounds of different roasting degree and geographical origin. *International Journal of Food Science and Technology*, 54(11), 3008–3014. <https://doi.org/10.1111/ijfs.14213>
80. Obruca, S., Benesova, P., Petrik, S., Oborna, J., Prikryl, R., Marova, I. (2014). Production of polyhydroxyalkanoates using hydrolysate of spent coffee grounds. *Process Biochemistry*, 49(9), 1409–1414. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2014.05.013>

## REFERENCES

1. Sirohi, R., Pandey, J.P., Gaur, V.K., Gnansounou, E., Sindhu, R. (2020). Critical overview of biomass feedstocks as sustainable substrates for the production of polyhydroxybutyrate (PHB). *Bioresour Technol*, 311, Article 123536. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2020.123536>
2. Pakalapati, H., Chang, C.-K., Show, P. L., Arumugasamy, S. K., Lan, J. C.-W. (2018). Development of polyhydroxyalkanoates production from waste feedstocks and applications. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 126(3), 282–292. <https://doi.org/10.1016/j.jbiosc.2018.03.016>
3. Polyhydroxyalkanoate Market Size and Share Analysis – Growth Trends and Forecasts (2024–2029) Retrieved from <https://www.mordorintelligence.com/industry-reports/polyhydroxyalkanoate-market> Accessed September 18, 2023
4. Markets and Markets. (2022). Global Polyhydroxyalkanoate (PHA) Market by Type (Short chain length, Medium Chain Length), Production Methods (Sugar Fermentation, Vegetable Oil Fermentation), Application (Packaging and Food Services, Biomedical) and Region – Global Forecast to 2027. Retrieved from <https://www.researchandmarkets.com/reports/5241294/global-polyhydroxyalkanoate-pha-market-by> Accessed September 18, 2023
5. Press Information Department of the Ministry of Agriculture of the Russian Federation: A plant for production of bioplastic from wheat will be built in the SEZ "Lipetsk" (2019). Ministry of Agriculture of the Russian Federation. Retrieved from <https://mcs.gov.ru/press-service/regions/zavod-po-proizvodstvu-bioplastika-iz-pshenitsy-postroyat-v-oez-lipetsk/> Accessed September 18, 2023. (In Russian)
6. Dalton, B., Bhagabati, P., De Micco, J., Padamati, R. B., O'Connor, K. (2022). A review on biological synthesis of the biodegradable polymers polyhydroxyalkanoates and the development of multiple applications. *Catalysts*, 12(3), Article 319. <https://doi.org/10.3390/catal12030319>
7. Koller, M., Gasser, I., Schmid, F., Berg, G. (2011). Linking ecology with economy: Insights into polyhydroxyalkanoate-producing microorganisms. *Engineering in Life Sciences*, 11(3), 222–237. <https://doi.org/10.1002/elsc.201000190>
8. Kannah, R.Y., Kumar, M.D., Kavitha, S., Banu, J.R., Tyagi, V.K., Rajaguru, P. et al. (2022). Production and recovery of polyhydroxyalkanoates (PHA) from waste streams – A review. *Bioresour Technol*, 366, Article 128203. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2022.128203>
9. Allegue, L. D., Ventura, M., Melero, J. A., Puyol, D. (2022). Unraveling PHA production from urban organic waste with purple phototrophic bacteria via organic overload. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 166, Article 112687. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2022.112687>
10. Rajvanshi, J., Sogani, M., Kumar, A., Arora, S., Syed, Z., Sonu, K. et al. (2023). Perceiving biobased plastics as an alternative and innovative solution to combat plastic pollution for a circular economy. *Science of The Total Environment*, 874, Article 162441. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2023.162441>
11. Saratale, R. G., Cho, S.-K., Kadam, A. A., Ghodake, G. S., Kumar, M., Bharagava, R. N. et al. (2022). Developing microbial co-culture system for enhanced Polyhydroxyalkanoates (PHA) production using acid pretreated lignocellulosic biomass. *Polymers*, 14(4), Article 726. <https://doi.org/10.3390/polym14040726>
12. Park, S. J., Ahn, W. S., Green, P. R., Lee, S. Y. (2001). Biosynthesis of poly(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate-co-3-hydroxyhexanoate) by metabolically engineered *Escherichia coli* strains. *Biotechnology and Bioengineering*, 74(1), 82–87. <https://doi.org/10.1002/bit.1097>
13. Amini, M., Yousefi-Massumabad, H., Younesi, H., Abyar, H., Bahramifar, N. (2020). Production of the polyhydroxyalkanoate biopolymer by *Cupriavidus necator* using beer brewery wastewater containing maltose as a primary carbon source. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 8(1), Article 103588. <https://doi.org/10.1016/j.jece.2019.103588>
14. Rangel, C., Carvalho, G., Oehmen, A., Frison, N., Lourenço, N. D., Reis, M. A. M. (2023). Polyhydroxyalkanoates production from ethanol- and lactate-rich fermentate of confectionary industry effluents. *International Journal of Biological Macromolecules*, 229, 715–723. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2022.12.268>
15. Tamis, J., Lužkov, K., Jiang, Y., van Loosdrecht, M. C. M., Kleerebezem, R. (2014). Enrichment of *Plasticumulans acidivorans* at pilot-scale for PHA production on industrial wastewater. *Journal of Biotechnology*, 192(A), 161–169. <https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2014.10.022>
16. Amaro, T. M. M., Rosa, D., Comi, G., Iacumin, L. (2019). Prospects for the use of whey for Polyhydroxyalkanoate (PHA) production. *Frontiers in Microbiology*, 10, Article 992. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.00992>
17. Berwig, K. H., Baldasso, C., Dettmer, A. (2016). Production and characterization of poly(5-hydroxybutyrate) generated by *Alcaligenes latus* using lactose and whey after acid protein precipitation process. *Bioresour Technol*, 218, 31–37. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2016.06.067>
18. Bosco, F., Cirrincione, S., Carletto, R., Marmo, L., Chiesa, F., Mazzoli, R. et al. (2021). PHA production from cheese whey and "Scotta": Comparison between a consortium and a pure culture of *Leuconostoc mesenteroides*. *Microorganisms*, 9(12), Article 2426. <https://doi.org/10.3390/microorganisms9122426>
19. Israni, N., Venkatachalam, P., Gajaraj, B., Varalakshmi, K. N., Shivakumar, S. (2020). Whey valorization for sustainable polyhydroxyalkanoate production by *Bacillus megaterium*: Production, characterization and in vitro biocompatibility evaluation. *Journal of Environmental Management*, 255, Article 109884. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2019.109884>
20. Costa, S. G. V. A. O., Lépine, F., Milot, S., Déziel, E., Nitschke, M., Contiero, J. (2009). Cassava wastewater as a substrate for the simultaneous production of rhamnolipids and polyhydroxyalkanoates by *Pseudomonas aeruginosa*. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, 36(8), 1063–1072. <https://doi.org/10.1007/s10295-009-0590-3>

21. Salgaonkar, B. B., Mani, K., Bragança, J. M. (2019). Sustainable bioconversion of cassava waste to Poly(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate) by Halogeometricum borinquense strain E5. *Journal of Polymers and the Environment*, 27(2), 299–308. <https://doi.org/10.1007/s10924-018-1346-9>
22. Hierro-Iglesias, C., Chimphango, A., Thornley, P., Fernández-Castané, A. (2022). Opportunities for the development of cassava waste biorefineries for the production of polyhydroxyalkanoates in Sub-Saharan Africa. *Biomass and Bioenergy*, 166, Article 106600. <https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2022.106600>
23. Chaleomrum, N., Chookietwattana, K., Dararat, S. (2014). Production of PHA from cassava starch wastewater in sequencing batch reactor treatment system. *APCBEE Procedia*, 8, 167–172. <https://doi.org/10.1016/j.apcbee.2014.03.021>
24. Pozo, C., Martínez-Toledo, M. V., Rodelas, B., González-López, J. (2002). Effects of culture conditions on the production of polyhydroxyalkanoates by Azotobacter chroococcum H23 in media containing a high concentration of alpechin (wastewater from olive oil mills) as primary carbon source. *Journal of Biotechnology*, 97(2), 125–131. [https://doi.org/10.1016/S0168-1656\(02\)00056-1](https://doi.org/10.1016/S0168-1656(02)00056-1)
25. Beccari, M., Bertin, L., Dionisi, D., Fava, F., Lampis, S., Majone, M. et al. (2009). Exploiting olive oil mill effluents as a renewable resource for production of biodegradable polymers through a combined anaerobic-aerobic process: Bio-production of PHA from olive mill effluents. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, 84(6), 901–908. <https://doi.org/10.1002/jctb.2173>
26. Cerrone, F., Sánchez-Peinado M. del, M., Juárez-Jimenez, B., González-López, J., Pozo, C. (2010). Biological treatment of two-phase olive mill wastewater (TPOMW, alpeorjo): Polyhydroxyalkanoates (PHAs) production by Azotobacter strains. *Journal of Microbiology and Biotechnology*, 20(3), 594–601.
27. Kovalcik, A., Kucera, D., Matouškova, P., Pernicova, I., Obruca, S., Kalina, M. et al. (2018). Influence of removal of microbial inhibitors on PHA production from spent coffee grounds employing Halomonas halophila. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 6(2), 3495–3501. <https://doi.org/10.1016/j.jece.2018.05.028>
28. Obruca, S., Petrik, S., Benesova, P., Svoboda, Z., Eremka, L., Marova, I. (2014). Utilization of oil extracted from spent coffee grounds for sustainable production of polyhydroxyalkanoates. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 98(13), 5883–5890. <https://doi.org/10.1007/s00253-014-5653-3>
29. Kang, B.-J., Jeon, J.-M., Bhatia, S. K., Kim, D.-H., Yang, Y.-H., Jung, S. et al. (2023). Two-stage bio-hydrogen and polyhydroxyalkanoate production: Upcycling of spent coffee grounds. *Polymers*, 15(3), Article 681. <https://doi.org/10.3390/polym15030681>
30. Saratale, R.G., Cho, S.-K., Saratale, G.D., Kadam, A. A., Ghodake, G. S., Kumar, M. et al. (2021). A comprehensive overview and recent advances on polyhydroxyalkanoates (PHA) production using various organic waste streams. *Bioresource Technology*, 325, Article 124685. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2021.124685>
31. Follonier, S., Goyder, M. S., Silvestri, A.-C., Crelier, S., Kalman, F., Riesen, R. et al. (2014). Fruit pomace and waste frying oil as sustainable resources for the bioproduction of medium-chain-length polyhydroxyalkanoates. *International Journal of Biological Macromolecules*, 71, 42–52. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2014.05.061>
32. Kovalcik, A., Pernicova, I., Obruca, S., Szotkowski, M., Enev, V., Kalina, M. et al. (2020). Grape winery waste as a promising feedstock for the production of polyhydroxyalkanoates and other value-added products. *Food and Bioprocess Processing*, 124, 1–10. <https://doi.org/10.1016/j.fbp.2020.08.003>
33. Verlinden, R. A., Hill, D. J., Kenward, M. A., Williams, C. D., Piotrowska-Seget, Z., Radecka, I. K. (2011). Production of polyhydroxyalkanoates from waste frying oil by Cupriavidus necator. *AMB Express*, 1(1), Article 11. <https://doi.org/10.1186/2191-0855-1-11>
34. Costa, C. F. F. A., Amorim, C. L., Duque, A. F., Reis, M. A. M., Castro, P. M. L. (2022). Valorization of wastewater from food industry: Moving to a circular bio-economy. *Reviews in Environmental Science and Bio/Technology*, 21(1), 269–295. <https://doi.org/10.1007/s11157-021-09600-1>
35. Mannina, G., Presti, D., Montiel-Jarillo, G., Carrera, J., Suárez-Ojeda, M. E. (2020). Recovery of polyhydroxyalkanoates (PHAs) from wastewater: A review. *Bioresource Technology*, 297, Article 122478. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2019.122478>
36. Gecim, G., Aydin, G., Tavsanoglu, T., Erkok, E., Kalemte, A. (2021). Review on extraction of polyhydroxyalkanoates and astaxanthin from food and beverage processing wastewater. *Journal of Water Process Engineering*, 40, Article 101775. <https://doi.org/10.1016/j.jwpe.2020.101775>
37. Sanli, H., Canakci, M., Alptekin, E. (May 12–13, 2011). *Characterization of waste frying oils obtained from different facilities*. World Renewable Energy Congress – Sweden. Linköping, 2011. <https://doi.org/10.3384/ecp11057479>
38. Nitin, S. (2017). Investigation of waste frying oil as a green alternative fuel: An approach to reduce NOx emission. Chapter in a book: *Biofuels and Bioenergy (BICE2016)*. Springer International Publishing, 2017. [https://doi.org/10.1007/978-3-319-47257-7\\_11](https://doi.org/10.1007/978-3-319-47257-7_11)
39. Ciesielski, S., Mozejko, J., Pisutpaisal, N. (2015). Plant oils as promising substrates for polyhydroxyalkanoates production. *Journal of Cleaner Production*, 106, 408–421. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2014.09.040>
40. Pernicova, I., Kucera, D., Nebesarova, J., Kalina, M., Novackova, I., Koller, M. et al. (2019). Production of polyhydroxyalkanoates on waste frying oil employing selected Halomonas strains. *Bioresource Technology*, 292, Article 122028. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2019.122028>
41. Sangkharak, K., Khaithongkaeo, P., Chuaikhunupakarn, T., Choonut, A., Prasertsan, P. (2021). The production of polyhydroxyalkanoate from waste cooking oil and its application in biofuel production. *Biomass Conversion and Biorefinery*, 11(5), 1651–1664. <https://doi.org/10.1007/s13399-020-00657-6>
42. Dermeche, S., Nadour, M., Larroche, C., Mouliti-Mati, F., Michaud, P. (2013). Olive mill wastes: Biochemical characterizations and valorization strategies. *Process Biochemistry*, 48(10), 1532–1552. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2013.07.010>
43. Dionisi, D., Carucci, G., Papini, M. P., Riccardi, C., Majone, M., Carrasco, F. (2005). Olive oil mill effluents as a feedstock for production of biodegradable polymers. *Water Research*, 39(10), 2076–2084. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2005.03.011>
44. Ntaikou, I., Peroni, C.V., Kourmentza, C., Ilieva, V.I., Morelli, A., Chiellini, E. et al. (2014). Microbial bio-based plastics from olive-mill wastewater: Generation and properties of polyhydroxyalkanoates from mixed cultures in a two-stage pilot scale system. *Journal of Biotechnology*, 188, 138–147. <https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2014.08.015>
45. Rodríguez G., J. E., Brojanigo, S., Basaglia, M., Favaro, L., Casella, S. (2021). Efficient production of polyhydroxybutyrate from slaughterhouse waste using a recombinant strain of Cupriavidus necator DSM 545. *Science of The Total Environment*, 794, Article 148754. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.148754>
46. Main indicators of environmental protection. Statistical Bulletin. (2021) Federal State Statistics Service (Rosstat), Moscow, 2021. (In Russian)
47. Berezhnaya, E.A. (2021). Current state and prospects of whey processing. *Vestnik Nauki*, 3(1(34)), 131–135. (In Russian)
48. Zotta, T., Solieri, L., Iacumin, L., Picozzi, C., Gullo, M. (2020). Valorization of cheese whey using microbial fermentations. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 104(7), 2749–2764. <https://doi.org/10.1007/s00253-020-10408-2>
49. Akhlag, S., Singh, D., Mittal, N., Srivastava, G., Siddiqui, S., Faridi, S. A. et al. (2023). Polyhydroxybutyrate biosynthesis from different waste materials, degradation, and analytic methods: A short review. *Polymer Bulletin*, 80(6), 5965–5997. <https://doi.org/10.1007/s00289-022-04406-9>
50. Batcha, A. F.M., Prasad, D. M. R., Khan, M. R., Abdullah, H. (2014). Biosynthesis of poly(3-hydroxybutyrate) (PHB) by Cupriavidus necator H16 from jatropha oil as carbon source. *Bioprocess and Biosystems Engineering*, 37(5), 943–951. <https://doi.org/10.1007/s00449-013-1066-4>
51. Bholia, S., Arora, K., Kulshrestha, S., Mehariya, S., Bhatia, R. K., Kaur, P. et al. (2021). Established and emerging producers of PHA: Redefining the possibility. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 193(11), 3812–3854. <https://doi.org/10.1007/s12010-021-03626-5>
52. Koller, M. (2015). Recycling of Waste streams of the biotechnological Poly(hydroxyalkanoate) production by haloferax mediterranei on whey. *International Journal of Polymer Science*, 2015, Article 370164. <https://doi.org/10.1155/2015/370164>
53. Gahlawat, G., Kumari, P., Bhagat, N. R. (2020). Technological advances in the production of Polyhydroxyalkanoate biopolymers. *Current Sustainable/Renewable Energy Reports*, 7(3), 73–83. <https://doi.org/10.1007/s40518-020-00154-4>
54. Oliveira, C. S. S., Silva, M. O. D., Silva, C. E., Carvalho, G., Reis, M. A. M. (2018). Assessment of protein-rich cheese whey waste stream as a nutrients source for low-cost mixed microbial PHA production. *Applied Sciences*, 8(10), Article 1817. <https://doi.org/10.3390/app8101817>
55. Kee, S.H., Ganeson, K., Rashid, N.F.M., Yatim, A.F.M., Vigneswari, S., Amirul, A.-A. A. et al. (2022). A review on bio-refining of palm oil and sugar cane agro-industrial residues by bacteria into commercially viable bioplastics and biosurfactants. *Fuel*, 321, Article 124039. <https://doi.org/10.1016/j.fuel.2022.124039>
56. Vetoshkin, A.G. (2019). Technique and technology of handling waste from human activities: Textbook. In 2 parts. Part 2 Processing and disposal of industrial waste. Moscow, Vologda: Infra-Enzheneria, 2019. (In Russian)
57. Komarova, E.V., Buryakov, A.V., Surzhko, O.A. (2017). Production of biogas from waste of canning plants. *Innovation Science*, 5, 58–61. (In Russian)
58. Andler, R., Valdés, C., Urtuvia, V., Andreefen, C., Díaz-Barrera, A. (2021). Fruit residues as a sustainable feedstock for the production of bacterial polyhydroxyalkanoates. *Journal of Cleaner Production*, 307, Article 127236. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2021.127236>
59. Govil, T., Wang, J., Samanta, D., David, A., Tripathi, A., Rauniyar, S. et al. (2020). Lignocellulosic feedstock: A review of a sustainable platform for cleaner production of nature's plastics. *Journal of Cleaner Production*, 270, Article 122521. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2020.122521>
60. Rayasam, V., Chavan, P., Kumar, T. (2020). Polyhydroxyalkanoate synthesis by bacteria isolated from landfill and ETP with pomegranate peels as carbon source. *Archives of Microbiology*, 202(10), 2799–2808. <https://doi.org/10.1007/s00203-020-01995-9>
61. Umesh, M., Sankar, S. A., Thazeem, B. (2021). Fruit Waste as Sustainable Resources for Polyhydroxyalkanoate (PHA) Production. Chapter in a book: *Bioplastics for Sustainable Development*. Springer, Singapore, 2021. [https://doi.org/10.1007/978-981-16-1823-9\\_7](https://doi.org/10.1007/978-981-16-1823-9_7)
62. Basso, D., Weiss-Hortala, E., Patuzzi, F., Barattieri, M., Fiori, L. (2018). In deep analysis on the behavior of grape marc constituents during hydrothermal carbonization. *Energies*, 11(6), Article 1379. <https://doi.org/10.3390/en11061379>
63. Rebocho, A. T., Pereira, J. R., Freitas, F., Neves, L. A., Alves, V. D., Sevrin, C. et al. (2019). Production of medium-chain length polyhydroxyalkanoates by Pseudomonas citronellolis grown in apple pulp waste. *Applied Food Biotechnology*, 6(1), 71–82. <https://doi.org/10.22037/afb.v6i1.21793>
64. Pereira, J. R., Araújo, D., Freitas, P., Marques, A. C., Alves, V. D., Sevrin, C. et al. (2021). Production of medium-chain-length polyhydroxyalkanoates by Pseudomonas chlororaphis subsp. aurantiaca: Cultivation on fruit pulp waste and polymer characterization. *International Journal of Biological Macromolecules*, 167, 85–92. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.11.162>
65. Umesh, M., Sarojini, S., Choudhury, D.D., Santhosh, A.S., Kariyadan, S. (2023). Food waste valorization for bioplastic production. Chapter in a book: *Waste valorization for value-added products*. Bentham Science Publishers, 2023. <https://doi.org/10.2174/9789815123074123010013>
66. Matos, M., Cruz, R. A. P., Cardoso, P., Silva, F., Freitas, E. B., Carvalho, G. et al. (2021). Combined strategies to boost polyhydroxyalkanoate production from fruit waste in a three-stage pilot plant. *ACS Sustainable Chemistry and Engineering*, 9(24), 8270–8279. <https://doi.org/10.1021/acscuschemeng.1c02432>
67. Silva, F., Matos, M., Pereira, B., Ralo, C., Pequito, D., Marques, N. et al. (2022). An integrated process for mixed culture production of 3-hydroxyhexanoate-rich polyhydroxyalkanoates from fruit waste. *Chemical Engineering Journal*, 427, Article 131908. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2021.131908>
68. Balabina, I.P., Protsenko, E.P., Alferova, E.Y., Kosolapova, N.I., Miroshnichenko, O.V. (2019). Disposal of organic waste from the sugar industry by composting. *Ecology of Urban Areas*, 4, 27–33. <https://doi.org/10.24411/1816-1863-2019-14027> (In Russian)

69. De Melo, R. N., de Souza Hassemer, G., Steffens, J., Junges, A., Valduga, E. (2023). Recent updates to microbial production and recovery of polyhydroxyalkanoates. *3 Biotech*, 13(6), Article 204. <https://doi.org/10.1007/s13205-023-03633-9>
70. Cesário, M. T., Raposo, R. S., de Almeida, M. C. M. D., van Keulen, F., Ferreira, B. S., da Fonseca, M. M. R. (2014). Enhanced bioproduction of poly-3-hydroxybutyrate from wheat straw lignocellulosic hydrolysates. *New Biotechnology*, 31(1), 104–113. <https://doi.org/10.1016/j.nbt.2013.10.004>
71. Zhang, L., Jiang, Z., Tsui, T.-H., Loh, K.-C., Dai, Y., Tong, Y. W. (2022). A review on enhancing *Cupriavidus necator* fermentation for Poly(3-hydroxybutyrate) (PHB) production from low-cost carbon sources. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 10, Article 946085. <https://doi.org/10.3389/fbioe.2022.946085>
72. Tripathi, A. D., Yadav, A., Jha, A., Srivastava, S. K. (2012). Utilizing of sugar refinery waste (Cane Molasses) for production of bio-plastic under submerged fermentation process. *Journal of Polymers and the Environment*, 20(2), 446–453. <https://doi.org/10.1007/s10924-011-0394-1>
73. Rathika, R., Janaki, V., Shanthi, K., Kamala-Kannan, S. (2019). Bioconversion of agro-industrial effluents for polyhydroxyalkanoates production using *Bacillus subtilis* RS1. *International Journal of Environmental Science and Technology*, 16(10), 5725–5734. <https://doi.org/10.1007/s13762-018-2155-3>
74. Razzaq, S., Shahid, S., Farooq, R., Noreen, S., Perveen, S., Bilal, M. (2022). Sustainable bioconversion of agricultural waste substrates into poly (3-hydroxyhexanoate) (mcl-PHA) by *Cupriavidus necator* DSM 428. *Biomass Conversion and Biorefinery*. <https://doi.org/10.1007/s13399-022-03194-6>
75. Albuquerque, M. G. E., Martino, V., Pollet, E., Avérous, L., Reis, M. A. M. (2011). Mixed culture polyhydroxyalkanoate (PHA) production from volatile fatty acid (VFA)-rich streams: Effect of substrate composition and feeding regime on PHA productivity, composition and properties. *Journal of Biotechnology*, 151(1), 66–76. <https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2010.10.070>
76. Garcia, C. V., Kim, Y.-T. (2021). Spent coffee grounds and coffee silverskin as potential materials for packaging: A review. *Journal of Polymers and the Environment*, 29(8), 2372–2384. <https://doi.org/10.1007/s10924-021-02067-9>
77. Sisti, L., Celli, A., Totaro, G., Cinelli, P., Signori, F., Lazzeri, A. et al. (2021). Monomers, materials and energy from coffee by-products: A review. *Sustainability*, 13(12), Article 6921. <https://doi.org/10.3390/su13126921>
78. Al-Hamamre, Z., Foerster, S., Hartmann, F., Kröger, M., Kaltschmitt, M. (2012). Oil extracted from spent coffee grounds as a renewable source for fatty acid methyl ester manufacturing. *Fuel*, 96, 70–76. <https://doi.org/10.1016/j.fuel.2012.01.023>
79. Glowacka, R., Górska, A., Wirkowska-Wojdyła, M., Wołosiak, R., Majewska, E., Derewiaka, D. (2019). The influence of brewing method on bioactive compounds residues in spent coffee grounds of different roasting degree and geographical origin. *International Journal of Food Science and Technology*, 54(11), 3008–3014. <https://doi.org/10.1111/ijfs.14213>
80. Obruca, S., Benesova, P., Petrik, S., Oborna, J., Prikryl, R., Marova, I. (2014). Production of polyhydroxyalkanoates using hydrolysate of spent coffee grounds. *Process Biochemistry*, 49(9), 1409–1414. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2014.05.013>

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ	AUTHOR INFORMATION
<b>Принадлежность к организации</b>	<b>Affiliation</b>
<p><b>Кузнецова Анна Павловна</b> — аспирант, факультет биотехнологий (BioTech), Университет ИТМО 191002, Санкт-Петербург, ул. Ломоносова, 9 Тел.: +7-911-132-76-58 E-mail: apkuznetcova@itmo.ru ORCID: <a href="https://orcid.org/0000-0003-4130-8362">https://orcid.org/0000-0003-4130-8362</a> * автор для контактов</p>	<p><b>Anna P. Kuznetsova</b>, PhD Student, Faculty of Biotechnologies (BioTech), ITMO University 9, Lomonosova Str., St. Petersburg, 191002, Russia Tel.: +7-911-132-76-58 E-mail: apkuznetcova@itmo.ru ORCID: <a href="https://orcid.org/0000-0003-4130-8362">https://orcid.org/0000-0003-4130-8362</a> * corresponding author</p>
<p><b>Аль-Шехадат Руслан Исмаилович</b> — кандидат биологических наук, доцент, факультет биотехнологий (BioTech), Университет ИТМО 191002, Санкт-Петербург, ул. Ломоносова, 9 Тел.: +7-812-988-89-99 E-mail: al-shekhadat@itmo.ru ORCID: <a href="https://orcid.org/0000-0003-2897-3114">https://orcid.org/0000-0003-2897-3114</a></p>	<p><b>Ruslan I. Al-Shekhadat</b>, Candidate of Biological Sciences Docent, Faculty of Biotechnology (BioTech), ITMO University 9, Lomonosova Str., St. Petersburg, 191002, Russia Tel.: +7-812-988-89-99 E-mail: al-shekhadat@itmo.ru ORCID: <a href="https://orcid.org/0000-0003-2897-3114">https://orcid.org/0000-0003-2897-3114</a></p>
<b>Критерии авторства</b>	<b>Contribution</b>
<p>Авторы в равных долях имеют отношение к написанию рукописи и одинаково несут ответственность за плагиат.</p>	<p>Authors equally relevant to the writing of the manuscript, and equally responsible for plagiarism.</p>
<b>Конфликт интересов</b>	<b>Conflict of interest</b>
<p>Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.</p>	<p>The authors declare no conflict of interest.</p>

DOI: <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2024-7-1-44-51>



Поступила 05.06.2023

<https://www.fsjour.com/jour>

Поступила после рецензирования 26.02.2024

Научная статья

Принята в печать 02.03.2024

Open access

© Зинина О. В., Меренкова С. П., Ребезов М. Б., Вишнякова Е. А., 2024

## ИССЛЕДОВАНИЕ СВОЙСТВ БЕЛКОВЫХ ГИДРОЛИЗАТОВ, ПОЛУЧЕННЫХ ИЗ ЖЕЛУДКОВ ЦЫПЛЯТ-БРОЙЛЕРОВ, КАК ПОТЕНЦИАЛЬНОГО КОМПОНЕНТА БИОАКТИВНЫХ ПЛЕНОЧНЫХ ПОКРЫТИЙ

Зинина О. В.<sup>1\*</sup>, Меренкова С. П.<sup>1</sup>, Ребезов М. Б.<sup>2</sup>, Вишнякова Е. А.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Южно-Уральский государственный университет (национальный исследовательский университет), Челябинск, Россия

<sup>2</sup> Федеральный научный центр пищевых систем им. В. М. Горбатова Российской Академии наук, Москва, Россия

### КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: АННОТАЦИЯ

*биоактивная пленка, антиоксидантная активность, растворимость, эмульгирующая способность, желудок, молочная сыворотка, гидролиз*

Белковые гидролизаты являются перспективным активным компонентом при получении биоактивных пленочных покрытий для продуктов питания. Некоторые биополимеры способны проявлять биологическую активность, однако чаще для придания пленкам этих свойств необходимо подбирать биологически активные вещества. С другой стороны, не все компоненты позволяют формировать пленки с необходимыми свойствами, в связи с чем возникает необходимость исследования отдельных технологических характеристик используемых компонентов. Целью исследований является установление антиоксидантных и технологических свойств белковых гидролизатов, полученных микробной ферментацией субпродуктов птицы в молочной сыворотке в присутствии бифидобактерий, пропионовокислых бактерий и ацидофильной палочки, как потенциального компонента биоактивных пленочных покрытий для продуктов питания. В качестве контрольного образца использовали гидролизат, полученный ферментацией без добавления указанных видов бактерий. У белковых гидролизатов оценивали функциональные свойства: антиоксидантную способность методом кулонометрического титрования на кулонометре «Эксперт-006» с использованием аскорбиновой кислоты в качестве эталона, антирадикальную активность методом DPPH на спектрофотометре Jenway 6405 UV/Vis с определением величины IC<sub>50</sub>. Также выявляли технологические свойства, растворимость, влагоудерживающую, жирудерживающую и жиросуспендирующую способности гравиметрическим методом. Кроме того, определяли средний гидродинамический диаметр частиц в белковых гидролизатах на анализаторе размера частиц Microtrac FLEX. Результаты исследований антиоксидантных свойств показали, что антирадикальная активность DPPH в опытных образцах гидролизатов, полученных ферментацией бифидобактериями, была на 14,7% выше по сравнению с контролем; антиоксидантная способность в образцах гидролизатов, полученных ферментацией пропионовокислыми бактериями, на 29,6% превышала аналогичный показатель в контрольном образце. Значение показателя IC<sub>50</sub> оказалось наиболее высоким у контрольного образца гидролизата — 2,994 мг/мл, что на 45,5–53,3% выше, чем у опытных образцов гидролизатов. Результаты определения технологических свойств показали, что у белковых гидролизатов, полученных ферментацией разными видами бактерий, они значительно отличаются. Так, наиболее высокие значения жирудерживающей и жиросуспендирующей способностей оказались у гидролизата, полученного ферментацией с бифидобактериями — 351,1% и 61% соответственно, что показывает его потенциал для внесения в состав биокомпозиата в виде белково-масляной эмульсии. Высокая растворимость опытных образцов гидролизатов (от 90,1 до 91,4%) позволяет предположить их равномерное распределение в водной фазе при составлении биокомпозиата пленки. Таким образом, результаты исследований показали перспективность использования белковых гидролизатов из желудков цыплят-бройлеров в сыворотке в качестве активного компонента биоактивных пленочных покрытий. Антиоксидантные свойства белковых гидролизатов позволяют замедлять процессы окисления основных пищевых нутриентов, что внесет вклад в увеличение сроков хранения продуктов питания, упакованных в биоактивные пленки с данным компонентом.

ФИНАНСИРОВАНИЕ: Исследование выполнено при финансовой поддержке Российского научного фонда № 23-26-00153, <https://rscf.ru/project/23-26-00153>.

Received 05.06.2023

Available online at <https://www.fsjour.com/jour>

Accepted in revised 26.02.2024

Original scientific article

Accepted for publication 02.03.2024

Open access

© Zinina, O. V., Merenkova, S. P., Rebezov, M. B., Vishnyakova, E. A., 2024

## RESEARCH OF THE PROPERTIES OF PROTEIN HYDROLYSATES OBTAINED FROM THE BROILER CHICKEN GIZZARDS AS A POTENTIAL COMPONENT OF BIOACTIVE FILM COATINGS

Oksana V. Zinina<sup>1</sup>, Svetlana P. Merenkova<sup>1</sup>, Maksim B. Rebezov<sup>2</sup>, Elena A. Vishnyakova<sup>1</sup>

<sup>1</sup> South Ural State University (National Research University), Chelyabinsk, Russia

<sup>2</sup> V. M. Gorbатов Federal Research Center for Food Systems, Moscow, Russia

### KEY WORDS:

*bioactive film, antioxidant activity, solubility, emulsifying capacity, gizzard, whey, hydrolysis*

### ABSTRACT

Protein hydrolysates are a promising active component in the production of bioactive film coatings for food products. Some biopolymers can exert the biological activity. More often, however, it is necessary to select biologically active substances to impart these properties to films. On the other hand, not all components allow forming films with the required properties, and therefore there is a need to study the individual technological characteristics of the components used. The purpose of the research is to establish the antioxidant and technological properties of protein hydrolysates obtained by microbial fermentation of poultry by-products in whey with bifidobacteria, propionic acid bacteria and acidophilic bacteria as a potential basis for bioactive film coatings of food products. The hydrolysate obtained by fermentation without the addition of the specified

ДЛЯ ЦИТИРОВАНИЯ: Зинина, О. В., Меренкова, С. П., Ребезов, М. Б., Вишнякова Е. А. (2024). Исследование свойств белковых гидролизатов, полученных из желудков цыплят-бройлеров, как потенциального компонента биоактивных пленочных покрытий. *Пищевые системы*, 7(1), 44-51. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2024-7-1-44-51>

FOR CITATION: Zinina, O. V., Merenkova, S. P., Rebezov, M. B., Vishnyakova, E. A. (2024). Research of the properties of protein hydrolysates obtained from the broiler chicken gizzards as a potential component of bioactive film coatings. *Food Systems*, 7(1), 44-51. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2024-7-1-44-51>

bacterial species was used as a control sample. The functional properties of protein hydrolysates were assessed: antioxidant capacity by coulometric titration on an Expert-006 coulometer using ascorbic acid as a standard, antiradical activity by the DPPH method on a Jenway 6405 UV/Vis spectrophotometer with determination of the  $IC_{50}$  value. The technological properties, solubility, water-holding, fat-holding and fat-emulsifying capacities were also determined by the gravimetric method. In addition, the average hydrodynamic diameter of particles in protein hydrolysates was determined using a Microtrac FLEX particle size analyzer. The results of studies of the antioxidant properties showed that the DPPH antiradical activity was 14.7% higher in the experimental samples of hydrolysates obtained by fermentation with bifidobacteria compared to the control; samples of hydrolysates obtained by fermentation with propionic acid bacteria showed an antioxidant capacity 29.6% higher than that of the control sample. The  $IC_{50}$  value turned out to be the highest in the control hydrolysate sample (2.994 mg/ml), which was 45.5–53.3% higher than that in the experimental hydrolysate samples. The results of determining the technological properties showed that they differ significantly for protein hydrolysates obtained by fermentation with different types of bacteria. For example, the highest values of fat-holding and fat-emulsifying capacities were found in the hydrolysate obtained by fermentation with bifidobacteria (351.1% and 61%, respectively), which shows its potential for incorporation into the biocomposite in the form of a protein-oil emulsion. The high solubility of the experimental samples of hydrolysates (from 90.1 to 91.4%) suggests their uniform distribution in the aqueous phase when composing the biocomposite of the film. Thus, the research results have shown the prospects of using protein hydrolysates from the gizzards of broiler chickens in whey as an active component of bioactive film coatings. The antioxidant properties of protein hydrolysates allow slowing down oxidative processes in the main food nutrients, which will contribute to an increase in the shelf life of food products packaged in bioactive films with this component.

FUNDING: This research was funded by Russian Science Foundation No. 23-26-00153, <https://rscf.ru/project/23-26-00153/>.

## 1. Введение

Белковые гидролизаты и биологически активные пептиды, выделенные из пищевых белков, благодаря своей антиоксидантной и антимикробной активности могут быть использованы в качестве натуральных пищевых консервантов [1]. Их широко используют как активный компонент композиционных упаковочных материалов, обеспечивающих увеличение сроков хранения продуктов питания [2,3].

В последние годы ученые во всем мире все более активно исследуют возможности получения биоразлагаемых упаковочных материалов, которые полностью состоят из натуральных биополимеров [4] и могут употребляться вместе с упакованным продуктом [5].

Однако более перспективны работы, направленные на разработку интеллектуальных пленочных покрытий с новыми функциональными возможностями, содержащих противомикробные агенты, антиоксиданты и биоактивные компоненты для увеличения сроков хранения продукции и повышения ее безопасности [6,7].

Многие ученые продемонстрировали, что использование пищевых активных упаковочных материалов с биоактивными пептидами и белковыми гидролизатами способствует ингибированию патогенных микроорганизмов и замедлению окисления липидов, что в свою очередь повышает безопасность пищевых продуктов [8]. Однако формирование биоактивных свойств пленок, а также их структурно-механических и морфологических характеристик зависит от свойств введенных белковых гидролизатов.

Биоактивные пептиды высвобождаются из пищевых белков в процессе ферментативного гидролиза за счет протеолитической активности микроорганизмов или ферментов. Гидролиз вызывает образование более мелких белковых фракций со специфическими физико-химическими и функциональными свойствами. Такие структурные модификации включают уменьшение молекулярной массы, повышение гидрофильности за счет увеличения полярных групп ( $-NH_4^+$ ,  $-CO_2^-$ ) и изменение их молекулярной организации. Белковые гидролизаты содержат не только биоактивные пептиды, которые представляют собой небольшие фрагменты белка, имеющие 2–20 аминокислотных остатков и молекулярные массы менее 6000 Da [9], но и более высокомолекулярные фрагменты.

Биологически активные пептиды при высвобождении протеолитическими ферментами могут взаимодействовать с соответствующими рецепторами и регулировать физиологические функции организма, проявляя антиоксидантные, антибактериальные, противогрибковые и другие физиологические свойства.

Именно благодаря антиоксидантным свойствам белковые гидролизаты и биологически активные пептиды являются перспективной альтернативой синтетическим консервантам в составе пищевых систем и активных упаковочных материалов. Антиоксидантные пептиды обычно состоят из 3–16 аминокислотных остатков, представленных в основном гистидином, тирозином, метионином, цистеином, триптофаном и лизином, которые также проявляют антиоксидантную активность в свободной форме [10,11].

Биоактивные пептиды, разрывая цепь свободнорадикальных реакций, могут ингибировать скорость ферментативных и неферментативных процессов окисления, инактивировать свободные радикалы, проявляя антиоксидантные свойства [12].

Кроме того, благодаря поверхностно-активным свойствам, белковые гидролизаты могут располагаться на уровне границы раздела фаз масло: вода в пищевых эмульсиях, создавая физический барьер, минимизирующий контакт липидов с окислителями [13].

Биоактивные гидролизаты получают при направленном гидролизе полимерных белковых молекул. Наиболее экологичный метод получения — ферментативный гидролиз, в том числе протеолитическими ферментами культур микроорганизмов. Изменяя условия и параметры ферментации возможно получать белковые гидролизаты с заданными функционально-технологическими и физиологическими свойствами.

В многочисленных исследованиях доказаны технологические свойства гидролизатов коллагена, что позволяет широко применять их в качестве эмульгирующих и стабилизирующих компонентов при получении разных видов эмульсий, суспензий, гелей, а также для формирования устойчивых пищевых систем [14,15].

Функциональные и технологические свойства коллагеновых белков могут быть целенаправленно модифицированы в процессе экстракции и гидролиза. Функциональные свойства, проявляемые белковыми гидролизатами, полученными в результате ферментативной обработки, зависят от природы субстрата, от специфичности используемого фермента и от условий гидролиза [16].

Доказана зависимость гелеобразующих свойств и водоудерживающей способности гидролизатов коллагена от температуры и уровня pH в процессе гидролиза. Кроме того, установлено, что на формирование технологических свойств белка значительно влияют поверхностный заряд, распределение молекулярной массы и температура денатурации [17].

Li и др. (2013) проанализировали, что на растворимость гидролизатов коллагена влияет его молекулярная структура, наличие ионизируемых полярных групп, образующихся при гидролизе, электростатические и гидрофобные взаимодействия отдельных функциональных групп. Технологические свойства коллагена тесно связаны с его молекулярно-массовым распределением, которое зависит от характеристик сырья и от условий процесса получения материала [18].

Белковые гидролизаты, полученные из коллагенсодержащего сырья, широко используются в пищевой и биомедицинской отрасли, фармацевтической инженерии, что обусловлено их уникальными свойствами, высокой биосовместимостью, способностью к биологическому разложению, низкой антигенностью [19,20].

Белковые гидролизаты являются комплексными структурами, которые играют ключевую роль в формировании функциональных свойств и однородности композиционных составов пленок. Эти компоненты обуславливают технологические свойства полимерных систем, проявляя водо- и жирудерживающие свойства, гелеобразующие и стабилизирующие эффекты. В недавних исследованиях было доказано, что высокая растворимость белковых компонентов интенсифицирует их встраивание в структурную матрицу композитов, обуславливает гомогенную структуру и улучшенные механические характеристики [21]. Например, исследования рисового белка и его гидролизата показали, что из-за плохой растворимости белка у пленок образуется шероховатая поверхность и ухудшаются свойства. В то время как пленки с добавлением гидролизата рисового белка обладают превосходной растяжимостью благодаря хорошей раство-

римости гидролизата в воде [22]. При добавлении в биоразлагаемые пленки на основе хитозана белковых гидролизатов молочной сыворотки установлено незначительное повышение растворимости пленки, что авторы объясняют высокой растворимостью самого гидролизата. Кроме того, введение сывороточного белкового гидролизата значительно повышало прочность композитных пленок из хитозана. Ученые связывают это с ковалентными взаимодействиями между аминными группами хитозана и карбоновыми группами аминокислот молочной сыворотки, то есть с межмолекулярным сшиванием, за счет которого повышается механическая прочность пленок [23]. Жироэмульгирующие свойства белковых гидролизатов имеют потенциал для стабилизации микроэмульсий, встраиваемых в состав биоактивных пленок [24]. Также, например, установлено, что наличие полярных групп, образуемых в результате ферментативного гидролиза рыбного белка, придает получаемым гидролизатам хорошую водоудерживающую способность. Пленки с добавлением таких гидролизатов белка с полярными группами обладают высокой гидрофильностью и водопоглощением, что обуславливает снижение угла контакта пленки с водой [25].

Многие ученые указывают на высокую протеолитическую активность бифидобактерий, пропионовокислых бактерий и ацидофильной палочки. Синергетический эффект от воздействия на белковый субстрат ферментов, продуцируемых микроорганизмами, а также таких продуктов метаболизма, как органические кислоты, позволяет преобразовать полипептидные цепи сложных белков в более простые пептиды и свободные аминокислоты.

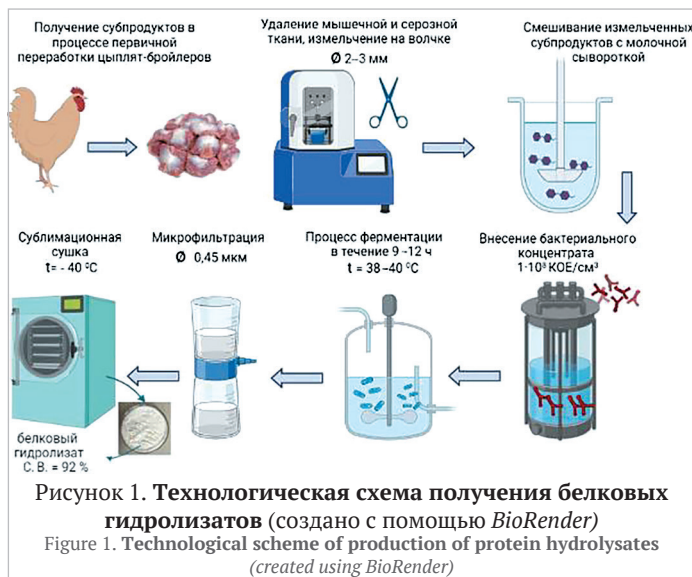
В связи с этим перспективно использование данных видов бактерий для проведения микробной ферментации белковых субстратов, например, в виде субпродуктов птицы и молочной сыворотки.

С точки зрения преобразования вторичных сырьевых ресурсов предприятий пищевой отрасли в белковые компоненты и добавки, используемые и в производстве биоразлагаемых материалов, биоконверсия является многообещающим подходом как к сохранению продовольственных ресурсов, так и к обеспечению экологического благополучия.

Целью исследований является установление функциональных и технологических свойств белковых гидролизатов, полученных микробной ферментацией субпродуктов птицы в молочной сыворотке в присутствии бифидобактерий, пропионовокислых бактерий и ацидофильной палочки, как потенциального активного компонента пленочных покрытий для продуктов питания.

## 2. Объекты и методы

Объектом исследований являются белковые гидролизаты (БГ), полученные микробной ферментацией желудков цыплят-бройлеров в молочной сыворотке. Технологическая схема получения белковых гидролизатов представлена на Рисунке 1, оптимальные параметры процесса гидролиза (температура, продолжительность, количество закваски) были установлены в результате многофакторного эксперимента в ранее опубликованной работе [26].



В качестве биологических агентов для ферментации использовали закваски, представленные в Таблице 1; жидкий концентрат бифидобактерий и концентрат пропионовокислых бактерий «Про-

пионикс» производства ООО «Пропионикс» (Россия), закваска «Ацидофилин» (ООО «Бакздрав», Россия).

Количество вводимых бактериальных препаратов составляло  $1 \cdot 10^8$  КОЕ/см<sup>3</sup>.

Таблица 1. Обозначение образцов белковых гидролизатов

Table 1. Designation of the samples of protein hydrolysates

Компонент БГ	Обозначение БГ			
	БГ-К	БГ-А	БГ-П	БГ-Б
Обезжиренные желудки цыплят-бройлеров	+	+	+	+
Молочная сыворотка	+	+	+	+
Закваска «Ацидофилин» ( <i>Lactobacillus Acidophilus</i> , <i>Streptococcus thermophiles</i> )		+	-	-
Жидкий концентрат «Пропионикс» ( <i>Propionibacterium freudenreichii shermanii</i> KM 186)	-	-	+	-
Жидкий концентрат бифидобактерий ( <i>Bifidobacterium longum</i> B379M)	-	-	-	+

У полученных белковых гидролизатов определяли технологические показатели (растворимость, жирудерживающая, влагоудерживающая, жироэмульгирующая способности) и функциональные свойства (антирадикальная активность, антиоксидантная способность).

Для определения жирудерживающей способности (ЖУС) навеску БГ массой 5 г помещали во взвешенную градуированную центрифужную пробирку, добавляли 30 мл рафинированного и дезодорированного подсолнечного масла. Смесь перемешивали в течение 1 мин при скорости вращения магнитной мешалки Stegler HS (Shanghai Jingke Scientific Instrument Co, Ltd, Китай) 1000 об/мин, отстаивали 30 мин, после чего центрифугировали 15 мин при 4000 об/мин в центрифуге ЦЛУ-1 «Орбита» (НПО «Ветинструмент», Россия) и взвешивали пробирку с белком и маслом. Неадсорбированное масло сливали, пробирку устанавливали в наклонном положении под углом 10–15° на 10 мин для удаления оставшегося масла, затем пробирку взвешивали.

ЖУС рассчитывали по формуле:

$$\text{ЖУС} = \frac{a-b}{c} \cdot 100 \quad (1),$$

где  $a$  — масса пробирки с белком и связанным маслом, г;

$b$  — масса пробирки с белком, г;

$c$  — навеска белка, г.

Определение влагоудерживающей способности (ВУС) проводили аналогично ЖУС, но вместо подсолнечного масла в центрифужную пробирку добавляли воду.

ВУС рассчитывали по формуле:

$$\text{ВУС} = \frac{d-b}{c} \cdot 100 \quad (2),$$

где  $d$  — масса пробирки с белком и связанной водой, г.

Для определения жироэмульгирующей способности (ЖЭС) навеску гидролизата массой 3,5 г помещали в блендер, добавляли 50 мл дистиллированной воды и готовили суспензию в течение 1 мин при 4000 об/мин. Затем в смесь добавляли 50 мл подсолнечного масла и эмульгировали в блендере 5 минут. Эмульсию помещали в градуированную пробирку и центрифугировали в центрифуге ЦЛУ-1 «Орбита» (НПО «Ветинструмент», Россия) 5 минут при 2000 об/мин.

ЖЭС рассчитывали по формуле:

$$\text{ЖЭС} = \frac{V_3}{V_0} \cdot 100 \cdot 100 \quad (3),$$

где  $V_3$  — объем эмульгированного слоя, мл;

$V_0$  — общий объем смеси, мл.

Для определения растворимости в мерный стакан вместимостью 100 см<sup>3</sup> помещали навеску БГ в количестве 3,5 г. Навеску растворяли небольшими порциями воды температурой  $(40 \pm 2)^\circ\text{C}$ , тщательно растирая комочки стеклянной палочкой, доводили объем воды до 50 см<sup>3</sup> и выдерживали полученный раствор в течение 15–20 мин при температуре 18–25 °С. Растворенный БГ перемешивали, заполняли им предварительно взвешенные центрифужные пробирки. Пробирки центрифугировали (НПО «Ветинструмент», Россия) в течение 5 мин. По окончании центрифугирования при отсутствии четкой границы надосадочную жидкость сливали, оставляя над осадком ее



слой высотой около 5 мм. Затем доливали в пробирки воду температурой 18–25 °С до верхней метки, перемешивали содержимое пробирок стеклянной палочкой, закрывали пробками и центрифугировали в течение 5 мин. Из пробирок удаляли надосадочную жидкость, подсушивали с остатком и взвешивали. По разности масс пустой пробирки и пробирки с остатком определяли растворимость (%).

Средний гидродинамический размер частиц в БГ определяли на анализаторе размера частиц Microtrac FLEX (Microtrac Inc., Montgomeryville, США).

У полученных белковых гидролизатов исследовали молекулярно-массовое распределение пептидов методом УВЭЖХ, совмещенной с масс-спектрометрией, с последующей идентификацией полученных пептидов. Хроматографическое разделение исследуемых пептидов проводили с использованием системы УВЭЖХ 1290 Infinity (Agilent Technologies, Санта-Клара, Калифорния, США), аналитической колонки AdvanceBio Peptide Mapping 120Å (2,1×250 мм, размер частиц 2,7 мкм (Agilent Technologies, Санта-Клара, Калифорния, США) и аналитической защитной колонки ZORBAX Extend-C18 (4,6×12,5 мм, 5 мкм) (Agilent Technologies, Санта-Клара, Калифорния, США). Подвижную фазу, H<sub>2</sub>O (А) и АСН (В), приготовленные с 0,1% муравьиной кислотой (Sigma-Aldrich, Darmstadt, Германия) v/v, прокачивали со скоростью 0,2 мл/мин, объем впрыска составлял 10 мкл. Подробно методика проведения исследования с обозначением используемых параметров описана в работе [1].

Обнаруженные соединения идентифицировали методом MS-фрагментации с использованием программного обеспечения MSIAL (версия 5.1, RIKEN CSRS, Yokohama City, Япония). Более 300 соединений было получено с применением параметров программы MSIAL с точным допуском по массе MS1–0,01 Да и MS2–0,05 Да. Количественное определение основных пептидов проводили с использованием калибровочных кривых Лейтрагина®; коэффициент регрессии > 0,990.

Антирадикальную активность 1%-ных растворов белковых гидролизатов определяли методом DPPH. Для исследований использовали раствор: 0,025 г 2,2-дифенил-1-пикрилгидразила (DPPH, Central Drug House Ltd, Daryaganj, Delhi, India) в 100 мл этанола. 0,5 мл раствора БГ смешивали с 3,6 мл раствора DPPH, инкубировали в темноте в течение 30 мин. Поглощение измеряли на спектрофотометре Jenway 6405 UV/Vis (Jenway Ltd, Felstad, Великобритания) при 515 нм [27].

Радикал-поглощающую активность (РПА) DPPH рассчитывали по формуле, %:

$$РПА_{DPPH} = \frac{A_k - A_i}{A_k} \cdot 100\% \quad (4),$$

где  $A_k$  — значение оптической плотности для контрольного образца;  $A_i$  — значение оптической плотности исследуемого образца.

Также определяли значение показателя  $IC_{50}$ , который характеризует концентрацию вещества, связывающего 50% образовавшихся радикалов DPPH. Величину  $IC_{50}$  рассчитывали по графику значений РПА<sub>DPPH</sub> (%) для различных концентраций белковых гидролизатов (от 0 до 9 мг/мл). Для этого готовили серию разведений БГ в концентрациях 1, 3, 5, 7 и 9 мг/мл и измеряли их антирадикальную активность. По полученным данным построили график, по которому установили значение величины  $IC_{50}$ .

Антиоксидантную способность (АОС) БГ электрогенерированным бромом определяли методом кулонометрического титрования на кулонометре «Эксперт-006» (НПК ООО «Эконикс-Эксперт», Россия). Для анализа использовали 1%-ный спиртовой раствор БГ, объем аликвоты составлял 1 мл. В качестве эталона применяли 0,1%-й раствор аскорбиновой кислоты. Суммарную антиоксидантную активность в пересчете на г аскорбиновой кислоты на 100 см<sup>3</sup> пробы вычисляли по формуле (5):

$$X = Q \cdot \frac{C \cdot V_{ан}}{100 \cdot I \cdot t} \quad (5),$$

где Q — суммарная антиоксидантная активность анализируемой пробы в количестве электричества, Кл;  
C — концентрация аскорбиновой кислоты в стандартном растворе в г на 100 см<sup>3</sup> раствора;  
I — сила тока (50 мА);  
t — время достижения конечной точки титрования, с;  
 $V_{ан}$  — объем аликвоты, см<sup>3</sup>.

Результаты выражали в мг-экв. аскорбиновой кислоты / г БГ.

Анализ проводили в пяти повторностях; каждое измерение повторяли трижды. Результаты выражали как средние значения пяти измерений ± стандартное отклонение. Значения вероятности  $p \leq 0,05$  были взяты для обозначения статистической значимости. Данные

были проанализированы с помощью однофакторного дисперсионного анализа и теста Тьюки с использованием программного обеспечения в свободном доступе, предложенного Assaad и др. [28].

### 3. Результаты и обсуждение

Технологические свойства компонентов композиционных материалов в совокупности влияют на формирование однородных и стабильных композиционных составов для последующего получения пленок с необходимыми свойствами. Помимо основной структурообразующей матрицы в виде природных биополимеров, в композиционные составы добавляют пластификаторы и эмульгаторы для улучшения гибкости, растяжимости и стабильности структуры пленочного покрытия. Поэтому для получения однородных стабильных пленок с добавлением белковых гидролизатов в качестве активного компонента важно понимание их технологических свойств.

Результаты определения технологических показателей БГ представлены в Таблице 2.

Таблица 2. Технологические показатели БГ  
Table 2. Technological indicators of protein hydrolysates

Показатель	Значение показателя для гидролизата			
	БГ-К	БГ-А	БГ-П	БГ-Б
Жироудерживающая способность, %	139,5 ± 1,94 <sup>a</sup>	238,1 ± 1,93 <sup>b</sup>	220,5 ± 1,58 <sup>c</sup>	351,1 ± 3,29 <sup>a</sup>
Влагоудерживающая способность, %	170,3 ± 2,13 <sup>d</sup>	274,3 ± 1,81 <sup>c</sup>	315,0 ± 2,67 <sup>b</sup>	363,0 ± 1,83 <sup>a</sup>
Жироэмульгирующая способность, %	47,2 ± 0,27 <sup>c</sup>	48,3 ± 0,42 <sup>c</sup>	53,2 ± 0,43 <sup>b</sup>	61,0 ± 0,64 <sup>a</sup>
Растворимость, %	88,9 ± 1,22 <sup>a</sup>	91,2 ± 0,80 <sup>a</sup>	90,1 ± 1,49 <sup>a</sup>	91,4 ± 0,81 <sup>a</sup>

Примечание: значения представляют собой средние значения ± стандартное отклонение от среднего значения для группы  $n = 5$ . Средние значения в столбце без общей надстрочной буквы различаются ( $p < 0,05$ ) по данным однофакторного дисперсионного анализа и теста Тьюки.

Результаты оценки технологических свойств показали, что все исследуемые гидролизаты обладают достаточно высокой растворимостью независимо от вида микроорганизмов и их присутствия в сыворотке при ферментации, что благоприятно для получения гомогенных растворов и композиций. Высокая растворимость доказывает присутствие в БГ пептидов с гидрофильными свойствами, а включение таких компонентов в пленки усиливает эффект пластификатора, увеличивает свободный объем матрицы пленки, вследствие чего она становится более проницаемой и обладает высоким значением показателя паропроницаемости [29].

Результаты исследований показали существенные различия в значениях влагоудерживающей способности для разных видов БГ. Наибольшая способность удерживать влагу установлена у БГ, полученного ферментацией бифидобактериями — 363,0% ( $p < 0,05$ ). Высокая жироэмульгирующая способность БГ-П и БГ-Б показывает перспективность этих гидролизатов для включения в состав пленок на основе микроэмульсий, для которых важно проявление эмульгирующих свойств при взаимодействии компонентов композиции. При гидролизе вследствие нарушения целостности белковых структур образуются многочисленные пептиды, обладающие лучшими реакционными свойствами по сравнению с нативными белками, что влияет на способность улавливать масло [30].

Отмечено, что включение в композиционные составы пленок гидрофильных молекул позволяет придать им более однородную структуру, что объясняется эффективным равномерным диспергированием молекул в альгинатной матрице [31]. Похожий результат получен при исследованиях хитозановых пленок с включением в состав хорошо растворимого гидролизата рисового белка [22].

Косвенно о степени гидролиза можно судить по среднему размеру частиц в БГ. Полученные результаты оценки среднего размера частиц в гидролизатах перед фильтрацией через мембранный фильтр диаметром пор 0,45 мкм (Рисунок 2) согласуются с установленными значениями жироэмульгирующей способности для разных видов БГ.

Присутствующие в гидролизатах, полученных микробной ферментацией, продукты гидролиза характеризуются меньшим гидродинамическим диаметром (на 34,6–45,2%) по сравнению с контрольным гидролизатом. Частицы с меньшим диаметром способны более эффективно встраиваться в матрицу биокомпозитов.

Анализ молекулярной массы выявленных в гидролизатах пептидов (Рисунок 3) показал, что в основном пептиды имеют молекулярную массу до 1,5 кДа. Выявлен один пептид с максимальной молекулярной массой 2,01823 кДа — RAGGAGAAAAVPGGAGPGGGRAAL.

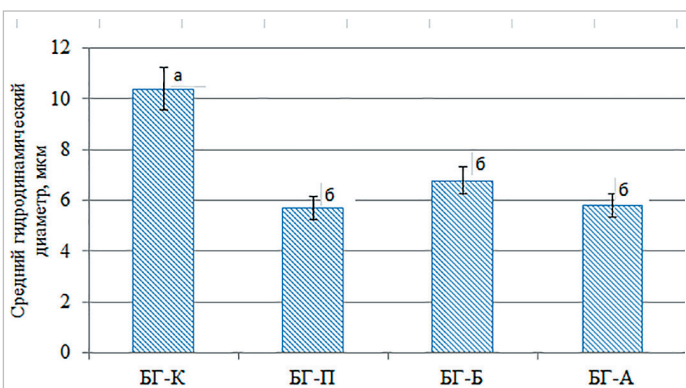


Рисунок 2. Средний гидродинамический диаметр частиц (различие в средних значениях для образцов с различной надстрочной буквой статистически достоверно ( $p < 0,05$ ))  
 Figure 2. Average hydrodynamic diameter of particles (difference in mean values for the samples with the different letter is statistically significant ( $p < 0.05$ ))

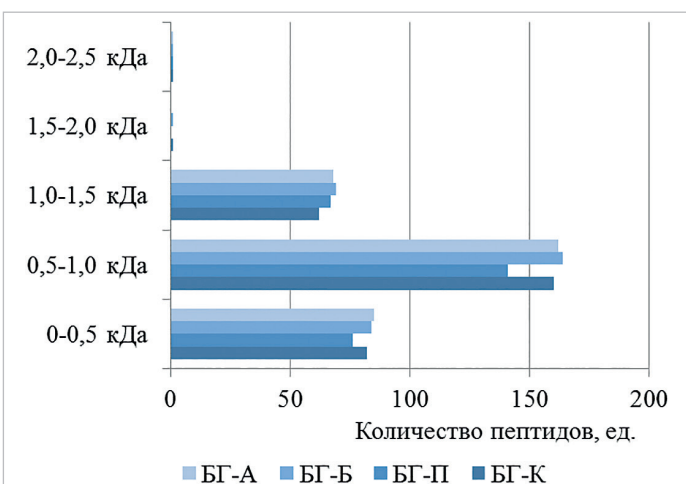


Рисунок 3. Количественное распределение выявленных в БГ пептидов, сгруппированных по молекулярной массе  
 Figure 3. Quantitative distribution of peptides revealed in protein hydrolysates grouped by molecular weight

Больше всего пептидов оказалось в БГ-Б (319), меньше всего — в БГ-П (285). Анализ распределения пептидов по фракциям показал, что на долю пептидов с молекулярной массой до 0,5 кДа приходится от 26,3% у БГ-Б до 26,9% у БГ-А по отношению к общему количеству обнаруженных пептидов в данных гидролизатах. Наиболее весомой оказалась фракция пептидов с молекулярной массой от 0,5 до 1,0 кДа — от 49,5% у БГ-П до 52,3% у БГ-К

Результаты оценки антиоксидантного потенциала БГ как активного компонента биоактивных пленочных покрытий представлены в Таблице 3.

Таблица 3. Антиоксидантные свойства БГ  
 Table 3. Antioxidant properties of protein hydrolysates

Образец БГ	АОС, мг-экв. аскорбиновой кислоты/г	IC <sub>50</sub> мг/мл	ДРРН, %
БГ-К	4,462 ± 0,020 <sup>c</sup>	2,994 ± 0,015 <sup>a</sup>	66,7 ± 0,50 <sup>b</sup>
БГ-П	5,784 ± 0,022 <sup>a</sup>	1,597 ± 0,010 <sup>b</sup>	68,1 ± 0,26 <sup>b</sup>
БГ-Б	4,271 ± 0,015 <sup>d</sup>	1,363 ± 0,008 <sup>d</sup>	76,5 ± 0,41 <sup>a</sup>
БГ-А	4,813 ± 0,011 <sup>b</sup>	1,426 ± 0,009 <sup>c</sup>	67,4 ± 0,18 <sup>b</sup>

Примечание: значения представляют собой средние значения ± стандартное отклонение от среднего значения для группы n = 5. Средние значения в строке без общей надстрочной буквы различаются ( $p < 0,05$ ) по данным однофакторного дисперсионного анализа и теста Тьюки.

Результаты определения антиоксидантных свойств БГ показали, что белковые гидролизаты, полученные ферментацией, обладают высокими значениями антирадикальной активности по сравнению с гидролизатами, полученными без внесения бактерий. Так, способность гидролизатов ингибировать радикалы DPPH достоверно воз-

росла на 14,7% ( $p < 0,05$ ) при ферментации бифидобактериями по сравнению с контролем, при этом для других опытных образцов БГ не было существенных различий в значениях антирадикальной активности по сравнению с контрольным образцом.

Однако антиоксидантная способность оказалась на 29,6% ( $p < 0,05$ ) выше у образцов БГ, полученных ферментацией пропионовокислыми бактериями, по сравнению с контролем, и на 20,2–35,3% ( $p < 0,05$ ) выше относительно остальных опытных образцов гидролизатов.

Выявленные закономерности связаны с различиями в работе ферментативной системы разных видов бактерий в данном субстрате. Метаболиты и пептиды, получаемые при ферментации бифидобактериями и пропионовокислыми бактериями, более эффективны в ингибировании свободных радикалов и перекисного окисления липидов.

Доказанная активность позволит сформировать выраженные антиоксидантные свойства биоразлагаемых пленок. Так, например, при исследовании белковых гидролизатов семян хлопчатника была доказана их высокая антиоксидантная активность и установлен потенциал использования в составе пленок и покрытий [32].

Значения антирадикальной активности DPPH, выявленные другими авторами, существенно отличаются, что, видимо, связано с использованием различных видов сырья для получения гидролизатов и с проведением ферментации разными видами ферментных препаратов: для экстракта ферментированной утиной печени в концентрации 1,0 мг/мл данный показатель установлен на уровне 60,57% [33]; более низкие значения выявлены для гидролизатов утиной печени [34] и для рыбных гидролизатов в концентрации 5 мг/мл — 44,54% [35].

При этом в литературе также отмечено положительное влияние введения БГ на антиоксидантные свойства упаковочных материалов; установлено, что альгинатные пленки с гидролизатом белков семян хлопчатника обладают не только высокой антирадикальной и антиокислительной способностью, но и ингибирующим эффектом против патогенных микроорганизмов [32].

В Таблице 4 представлена информация о разработках упаковочных материалов на основе белковых гидролизатов и изолятов с обозначением их влияния на различные свойства пленок.

Таблица 4. Разработки биоактивных пленочных материалов с активными белковыми компонентами

Table 4. Results of the development of bioactive film materials with active protein components

Белковый компонент пленки	Установленные биоактивные свойства	Источник
Гидролизат рапсового белка	При увеличении степени гидролиза рапсовый белок придавал композитным пленкам на основе хитозана более высокую плотность и прочность на разрыв. Компонент обладает высокой антимикробной активностью.	[36]
Гидролизат белка рыбы (ГБР)	Присутствие ГБР увеличивало растворимость в воде, паропроницаемость, удлинение при разрыве и пожелтение пленок. Филе, покрытое пленками с ГБР, содержало более низкие значения общего количества летучих оснований и pH и значительно замедляло рост микроорганизмов, продуцирующих сероводород	[37]
Гидролизат желатина из кожи карпа	Улучшение механических свойств пленок, получение антимикробных и антиоксидантных свойств	[38]
Гидролизат белка каракатицы	Более высокие свойства УФ-барьера. Снизилось удлинение на разрыв и прочность на растяжение, а также гидрофобность; повысилась антиоксидантная активность по сравнению с желатиновой пленкой	[39]
Белковый гидролизат семян хлопчатника	Введение БГ увеличило толщину и паропроницаемость альгинатной пленки. Повысилось содержание фенолов и антиоксидантная активность	[32]
Гидролизат соевого белка	Высокая антиоксидантная и противомикробная активность. Пленка обогащена биоактивной гамма-аминомасляной кислотой. Высокая прочность на растяжение и удлинение при разрыве в сочетании с более гладкой, компактной и однородной поверхностью с меньшим количеством пор и трещин	[21]
Гидролизат бычьей плазмы (ГБП)	При добавлении ГБП снижался предел прочности, модуль упругости и температура стеклования пленок, а также увеличивалось разрывное удлинение и паропроницаемость. Гидролизат оказал пластифицирующее действие на свойства пленки. Также установлены высокие антиоксидантные свойства	[40]

Представленная в Таблице 4 информация подтверждает потенциал белковых гидролизатов из сырья как животного, так и растительного происхождения, в качестве антимикробного и антиоксидантного компонента биоразлагаемых активных пленок, который позволил увеличивать сроки хранения продуктов питания, замедляя окислительную порчу и рост микроорганизмов. Также отмечено положительное влияние белковых компонентов на другие важные характеристики пленок.

Таким образом, результаты исследований показали высокий потенциал БГ как активных компонентов биоактивных пленочных покрытий, что также согласуется с результатами исследований других авторов.

#### 4. Выводы

Результаты проведенных исследований показали, что белковые гидролизаты из желудков цыплят-бройлеров, полученные

ферментацией в сыворотке с добавлением пропионовокислых, бифидобактерий и ацидофильной палочки, обладают высоким антиоксидантным потенциалом и оптимальными технологическими свойствами.

Благодаря этим свойствам белковые гидролизаты могут являться функциональным компонентом биоактивных пленочных покрытий для продуктов питания.

Использованные виды бактерий оказали различное воздействие на процесс ферментации. В результате полученные белковые гидролизаты значительно отличались по технологическим показателям и антиоксидантным свойствам. Эти различия определяют технологию введения их в состав биокомпозита, а также определяют возможности и области применения полученных упаковочных материалов.

### БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

- Zareie, Z., Yazdi, F. T., Mortazavi, S. A. (2020). Development and characterization of antioxidant and antimicrobial edible films based on chitosan and gamma-aminobutyric acid-rich fermented soy protein. *Carbohydrate Polymers*, 244, Article 116491. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2020.116491>
- Wang, L., Ding, J., Fang, Y., Pan, X., Fan, F., Li, P. et al. (2020). Effect of ultrasonic power on properties of edible composite films based on rice protein hydrolysates and chitosan. *Ultrasonics Sonochemistry*, 65, Article 105049. <https://doi.org/10.1016/j.ulsonch.2020.105049>
- Al-Hilifi, S. A., Al-Ibresam, O. T., Al-Hatim, R. R., Al-Ali, R. M., Maslekar, N., Yao, Y. et al. (2023). Development of Chitosan/Whey Protein Hydrolysate Composite Films for Food Packaging Application. *Journal of Composites Science*, 7(3), Article 94. <https://doi.org/10.3390/jcs7030094>
- Меренкова, С.П., Зинина, О.В. (2023). Исследование структуры и микробиологических показателей ферментированных растительных напитков. *Ползуновский вестник*, 1, 58–64. <https://doi.org/10.25712/ASTU.2072-8921.2023.03.008>
- Hasanzati Rostami, A., Motamedzadegan, A., Hosseini, S. E., Rezaei, M., Kamali, A. (2017). Evaluation of plasticizing and antioxidant properties of silver carp protein hydrolysates in fish gelatin film. *Journal of Aquatic Food Product Technology*, 26, 457–467. <https://doi.org/10.22092/jafs.2022.127951>
- Zinina, O., Merenkova, S., Galimov, D. (2021). Optimization of microbial hydrolysis parameters of poultry by-products using probiotic microorganisms to obtain protein hydrolysates. *Fermentation*, 7(5), Article 22. <https://doi.org/10.3390/fermentation7030122>
- Brand-Williams, W., Cuvelier, M., Berset C. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT-Food Science and Technology*, 28(1), 20–30. [https://doi.org/10.1016/S0023-6438\(95\)80008-5](https://doi.org/10.1016/S0023-6438(95)80008-5)
- Assaad, H. I., Zhou, L., Carroll, R. J., Wu, G. (2014). Rapid publication-ready MS-Word tables for one-way ANOVA. *Springer Plus*, 3, Article 474. <https://doi.org/10.1186/2193-1801-3-474>
- Giménez, B., Gómez-Estaca, J., Alemán, A., Gómez-Guillén, M. C., Montero, M. P. (2009). Improvement of the antioxidant properties of squid skin gelatin films by the addition of hydrolysates from squid gelatin. *Food Hydrocolloids*, 23(5), 1322–1327. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2009.04.005>
- Sathivel, S., Smiley, S., Prinyawiwatkul, W., Bechtel, P. J. (2005). Functional and nutritional properties of red salmon (*Oncorhynchus nerka*) enzymatic hydrolysates. *Journal of Food Science*, 70(6), 401–406. <http://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2005.tb11437.x>
- Riahi, Z., Priyadarshi, R., Rhim, J.-W., Lotfali, E., Bagheri, R., Pircheraghi, G. (2022). Alginate-based multifunctional films incorporated with sulfur quantum dots for active packaging applications. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 215, Article 112519. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2022.112519>
- Oliveira Filho, J. G., Rodrigues, J. M., Valadares, A. C. F., de Almeida, A. B., de Lima, T. M., Takeuchi, K. P. et al. (2019). Active food packaging: Alginate films with cottonseed protein hydrolysates. *Food Hydrocolloids*, 92, 267–275. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2019.01.052>
- Fan, X., Han, Y., Sun, Y., Zhang, T., Tu, M., Du, L. et al. (2023). Preparation and characterization of duck liver-derived antioxidant peptides based on LC-MS/MS, molecular docking, and machine learning. *LWT*, 175, Article 114479. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2023.114479>
- Sun, J., Zhou, C., Cao, J., He, J., Sun, Y., Dang, Y. et al. (2022). Purification and characterization of novel antioxidant peptides from duck liver protein hydrolysate as well as their cytoprotection against oxidative stress in HepG2 cells. *Frontiers in Nutrition*, 9, Article 848289. <https://doi.org/10.3389/fnut.2022.848289>
- Hu, Z., Cao, J., Liu, G., Zhang, H., Liu, X. (2020). Comparative transcriptome profiling of skeletal muscle from black Muscovy duck at different growth stages using RNA-seq. *Genes*, 11(10), Article 1228. <https://doi.org/10.3390/genes11101228>
- Zhang, C., Wang, Z., Li, Y., Yang, Y., Ju, X., He, R. (2019). The preparation and physicochemical characterization of rapeseed protein hydrolysate-chitosan composite films. *Food Chemistry*, 272, 694–701. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.08.097>
- da Rocha, M., Alemán, A., Romani, V. P., López-Caballero, M. E., Gómez-Guillén, M. C., Montero, P. et al. (2018). Effects of agar films incorporated with fish protein hydrolysate or clove essential oil on flounder (*Paralichthys orbignyanus*) fillets shelf-life. *Food Hydrocolloids*, 81, 351–363. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2018.03.017>
- Kruk, J., Tkaczewska, J., Szuwarzyński, M., Mazur, T., Jmróz, E. (2023). Influence of storage conditions on functional properties of multilayer biopolymer films based on chitosan and furcellaran enriched with carp protein hydrolysate. *Food Hydrocolloids*, 135, Article 108214. <https://doi.org/10.1016/j.food>
- Зинина, О. В., Николина, А. Д., Хвостов, Д. В., Ребезов, М. Б., Завьялов, С. Н., Ахмедзянов, П. В. (2023). Белковый гидролизат как источник биоактивных пептидов в пищевой продукции диabetического питания. *Пищевые системы*, 6(4), 440–448. <https://doi.org/10.21325/2618-9771-2023-6-4-440-448>
- Lima, K. O., de Quadros, C. D. C., da Rocha, M., de Lacerda, J. T. J. G., Juliano, M. A., Dias, M. et al. (2019). Bioactivity and bioaccessibility of protein hydrolysates from industrial byproducts of Stripped weakfish (*Cynoscion guatucupa*). *LWT*, 111, 408–413. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2019.05.043>
- Tkaczewska, J. (2020). Peptides and protein hydrolysates as food preservatives and components of edible films and coatings — A review. *Trends in Food Science and Technology*, 106, 298–311. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2020.10.022>
- Chaari, M., Elhadef, K., Akermi, S., Akacha, B.B., Fourati, M., Mtibaa, A. C. et al. (2022). Novel active food packaging films based on gelatin-sodium alginate containing beetroot peel extract. *Antioxidants*, 11, Article 2095. <https://doi.org/10.3390/antiox11112095>
- Tanjung, M. R., Rostini, I., Ismail, M. R., Pratama, R. I. (2020). Characterization of edible film from catfish (*Pangasius sp.*) surimi waste water with the addition sorbitol as plasticizer. *World News of Natural Sciences*, 28, 87–102.
- Firouz, S. M., Mohi-Alden, K., Omid, M. (2021). A critical review on intelligent and active packaging in the food industry: Research and development. *Food Research International*, 141, Article 110113. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2021.110113>
- Rebezov, M., Chughtai, M. F. D., Mehmood, T., Khaliq, A., Tanweer, S., Semenova, A. et al. (2022). Novel techniques for microbiological safety in meat and fish industries. *Applied Sciences*, 12(1), Article 319. <https://doi.org/10.3390/app12010319>
- Huang, T., Qian, Y., Wei, J., Zhou, C. (2019). Polymeric antimicrobial food packaging and its applications. *Polymers*, 11(5), Article 560. <https://doi.org/10.3390/polym11050560>
- Bhandari, D., Rafiq, S., Gat, Y., Gat, P., Waghmare, R., Kumar, V. (2020). A review on bioactive peptides: Physiological functions, bioavailability and safety. *International Journal of Peptide Research and Therapeutics*, 26, 139–150. <https://doi.org/10.1007/s10989-019-09823-5>
- Matemu, A., Nakamura, S., Katayama, S. (2021). Health benefits of antioxidative peptides derived from legume proteins with a high amino acid score. *Antioxidants*, 10(2), Article 316. <https://doi.org/10.3390/antiox10020316>
- Sanchez, A., Vazquez, A. (2017). Bioactive peptides: A review. *Food Quality and Safety*, 1(1), 29–46. <https://doi.org/10.1093/fqsafe/fyx006>
- Lorenzo, J. M., Munekata, P. E. S., Gómez, B., Barba, F. J., Mora, L., Pérez-Santaescolástica, C. et al. (2018). Bioactive peptides as natural antioxidants in food products — A review. *Trends in Food Science and Technology*, 79, 136–147. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2018.07.003>
- Loi, C. C., Eyres, G. T., Birch, E. J. (2019). Effect of milk protein composition on physicochemical properties, creaming stability and volatile profile of a protein-stabilised oil-in-water emulsion. *Food Research International*, 120, 83–91. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2019.02.026>
- Alves, S. G. T., Prudêncio-Ferreira, S. H. (2002). Functional properties of collagenous material chicken feet. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*, 52(3), 289–293.
- Sousa, S. C., Fragoso, S. P., Penna, C. R. A., Arcanjo N. M. O., Silva F. A. P., Ferreira V. C. S. et al. (2017). Quality parameters of frankfurter-type sausages with partial replacement of fat by hydrolyzed collagen. *LWT-Food Science and Technology*, 76(Part B), 320–325. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2016.06.034>
- Mora, L., Reig, M., Toldrá, F. (2014). Bioactive peptides generated from meat industry by-products. *Food Research International*, 65(Part C), 344–349. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2014.09.014>
- Moraes, M. C., Cunha, R. L. (2013). Gelation property and water holding capacity of heat-treated collagen at different temperature and pH values. *Food Research International*, 50(1), 213–223. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2012.10.016>
- Li, Z., Wang, B., Chi, C., Gong, Y., Luo, H., Ding, G. (2013). Influence of average molecular weight on antioxidant and functional properties collagen hydrolysates from *Sphyrna lewini*, *Dasyatis akajei* and *Raja porosa*. *Food Research International*, 51(1), 283–293. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2012.12.031>
- Vichare, R., Hossain, C. M., Ali, K. A., D. Dutta, Sneed, K., Biswal, M. R. (2021). Collagen-based nanomaterials in drug delivery and biomedical applications. Chapter in a book: *Biopolymer-Based Nanomaterials in Drug Delivery and Biomedical Applications*. Academic Press. 2021. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-820874-8.00008-7>
- Achilli, M., Mantovani, D. (2010). Tailoring mechanical properties of collagen-based Scaffolds for vascular tissue engineering: The effects of pH, temperature and ionic strength on gelation. *Polymers*, 2(4), 664–680. <https://doi.org/10.3390/polym2040664>

hyd.2022.108214

39. Abdelhedi, O., Salem, A., Nasri, R., Nasri, M., Jridi, M. (2022). Food applications of bioactive marine gelatin films. *Current Opinion in Food Science*, 43, 206–215. <https://doi.org/10.1016/j.cofs.2021.12.005>

## REFERENCES

1. Zinina, O. V., Nikolina, A. D., Khvostov, D. V., Rebezov, M. B., Zavyalov, S. N., Akhmedzyanov, R. V. (2023). Protein hydrolysates as a source of bioactive peptides in diabetic food products. *Food Systems*, 6(4), 440–448. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2023-6-4-440-448> (In Russian)
2. Lima, K. O., de Quadros, C. D. C., da Rocha, M., de Lacerda, J. T. J. G., Juliano, M. A., Dias, M. et al. (2019). Bioactivity and bioaccessibility of protein hydrolysates from industrial byproducts of Stripped weakfish (*Cynoscion guatucupa*). *LWT*, 111, 408–413. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2019.05.043>
3. Tkaczewska, J. (2020). Peptides and protein hydrolysates as food preservatives and bioactive components of edible films and coatings — A review. *Trends in Food Science and Technology*, 106, 298–311. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2020.10.022>
4. Chaari, M., Elhadef, K., Akermi, S., Akacha, B.B., Fourati, M., Mtibaa, A. C. et al. (2022). Novel active food packaging films based on gelatin-sodium alginate containing beetroot peel extract. *Antioxidants*, 11, Article 2095. <https://doi.org/10.3390/antiox11112095>
5. Tanjung, M. R., Rostini, I., Ismail, M. R., Pratama, R. I. (2020). Characterization of edible film from catfish (*Pangasius sp.*) surimi waste water with the addition sorbitol as plasticizer. *World News of Natural Sciences*, 28, 87–102.
6. Firouz, S. M., Mohi-Alden, K., Omid, M. (2021). A critical review on intelligent and active packaging in the food industry: Research and development. *Food Research International*, 141, Article 110113. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2021.110113>
7. Rebezov, M., Chughtai, M. F. D., Mehmood, T., Khaliq, A., Tanweer, S., Semenova, A. et al. (2022). Novel techniques for microbiological safety in meat and fish industries. *Applied Sciences*, 12(1), Article 319. <https://doi.org/10.3390/app12010319>
8. Huang, T., Qian, Y., Wei, J., Zhou, C. (2019). Polymeric antimicrobial food packaging and its applications. *Polymers*, 11(3), Article 560. <https://doi.org/10.3390/polym11030560>
9. Bhandari, D., Rafiq, S., Gat, Y., Gat, P., Waghmare, R., Kumar, V. (2020). A review on bioactive peptides: Physiological functions, bioavailability and safety. *International Journal of Peptide Research and Therapeutics*, 26, 139–150. <https://doi.org/10.1007/s10989-019-09823-5>
10. Matemu, A., Nakamura, S., Katayama, S. (2021). Health benefits of antioxidative peptides derived from legume proteins with a high amino acid score. *Antioxidants*, 10(2), Article 316. <https://doi.org/10.3390/antiox10020316>
11. Sanchez, A., Vazquez, A. (2017). Bioactive peptides: A review. *Food Quality and Safety*, 1(1), 29–46. <https://doi.org/10.1093/fqsafe/fyx006>
12. Lorenzo, J. M., Munekata, P. E. S., Gómez, B., Barba, F. J., Mora, L., Pérez-Santaescolástica, C. et al. (2018). Bioactive peptides as natural antioxidants in food products — A review. *Trends in Food Science and Technology*, 79, 136–147. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2018.07.003>
13. Loi, C. C., Eyres, G. T., Birch, E. J. (2019). Effect of milk protein composition on physicochemical properties, creaming stability and volatile profile of a protein-stabilised oil-in-water emulsion. *Food Research International*, 120, 83–91. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2019.02.026>
14. Alves, S. G. T., Prudêncio-Ferreira, S. H. (2002). Functional properties of collagenous material chicken feet. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*, 52(3), 289–293.
15. Sousa, S. C., Fragoso, S. P., Penna, C. R. A., Arcanjo N. M. O., Silva F. A. P., Ferreira V. C. S. et al. (2017). Quality parameters of frankfurter-type sausages with partial replacement of fat by hydrolyzed collagen. *LWT-Food Science and Technology*, 76(Part B), 320–325. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2016.06.034>
16. Mora, L., Reig, M., Toldrá, F. (2014). Bioactive peptides generated from meat industry by-products. *Food Research International*, 65(Part C), 344–349. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2014.09.014>
17. Moraes, M. C., Cunha, R. L. (2013). Gelation property and water holding capacity of heat-treated collagen at different temperature and pH values. *Food Research International*, 50(1), 213–223. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2012.10.016>
18. Li, Z., Wang, B., Chi, C., Gong, Y., Luo, H., Ding, G. (2013). Influence of average molecular weight on antioxidant and functional properties collagen hydrolysates from *Sphyrna lewini*, *Dasyatis akajei* and *Raja porosa*. *Food Research International*, 51(1), 283–293. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2012.12.031>
19. Vichare, R., Hossain, C. M., Ali, K. A., D. Dutta, Sneed, K., Biswal, M. R. (2021). Collagen-based nanomaterials in drug delivery and biomedical applications. Chapter in a book: *Biopolymer-Based Nanomaterials in Drug Delivery and Biomedical Applications*. Academic Press. 2021. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-820874-8.00008-7>
20. Achilli, M., Mantovani, D. (2010). Tailoring mechanical properties of collagen-based Scaffolds for vascular tissue engineering: The effects of pH, temperature and ionic strength on gelation. *Polymers*, 2(4), 664–680. <https://doi.org/10.3390/polym2040664>
21. Zareie, Z., Yazdi, F. T., Mortazavi, S. A. (2020). Development and characterization of antioxidant and antimicrobial edible films based on chitosan and gamma-aminobutyric acid-rich fermented soy protein. *Carbohydrate Polymers*, 244, Article 116491. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2020.116491>
22. Wang, L., Ding, J., Fang, Y., Pan, X., Fan, F., Li, P., Hu, Q. (2020). Effect of ultrasonic power on properties of edible composite films based on rice protein hydrolysates and chitosan. *Ultrasonics Sonochemistry*, 65, Article 105049. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2020.105049>
23. Al-Hilifi, S. A., Al-Ibresam, O. T., Al-Hatim, R. R., Al-Ali, R. M., Maslekar, N., Yao, Y., Agarwal, V. (2023). Development of Chitosan/Whey Protein Hydrolysate Composite Films for Food Packaging Application. *Journal of Composites Science*, 7(3), Article 94. <https://doi.org/10.3390/jcs7030094>
24. Merenkova, S. P., Zinina, O. V. (2023). Potential of using microemulsions as a bioactive component of food film materials. *Polzunovskiy Vestnik*, 3, 58–64. <https://doi.org/10.25712/ASTU.2072-8921.2023.03.008> (In Russian)
25. Hasanzati Rostami, A., Motamedzadegan, A., Hosseini, S. E., Rezaei, M., Kamali, A. (2017). Evaluation of plasticizing and antioxidant properties of silver carp protein hydrolysates in fish gelatin film. *Journal of Aquatic Food Product Technology*, 26, 457–467. <https://doi.org/10.22092/ijfs.2022.127951>
26. Zinina, O., Merenkova, S., Galimov, D. (2021). Optimization of microbial hydrolysis parameters of poultry by-products using probiotic microorganisms to obtain protein hydrolysates. *Fermentation*, 7(3), Article 22. <https://doi.org/10.3390/fermentation7030122>
27. Brand-Williams, W., Cuvelier, M., Berset C. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT- Food Science and Technology*, 28(1), 20–30. [https://doi.org/10.1016/S0023-6438\(95\)80008-5](https://doi.org/10.1016/S0023-6438(95)80008-5)
28. Assaad, H. I., Zhou, L., Carroll, R. J., Wu, G. (2014). Rapid publication-ready MS-Word tables for one-way ANOVA. *Springer Plus*, 3, Article 474. <https://doi.org/10.1186/2195-1801-3-474>
29. Giménez, B., Gómez-Estaca, J., Alemán, A., Gómez-Guillén, M. C., Montero, M. P. (2009). Improvement of the antioxidant properties of squid skin gelatin films by the addition of hydrolysates from squid gelatin. *Food Hydrocolloids*, 23(5), 1322–1327. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2009.04.005>
30. Sathivel, S., Smiley, S., Prinyawiwatkul, W., Bechtel, P. J. (2005). Functional and nutritional properties of red salmon (*Oncorhynchus nerka*) enzymatic hydrolysates. *Journal of Food Science*, 70(6), 401–406. <http://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2005.tb11437.x>
31. Riahi, Z., Priyadarshi, R., Rhim, J.-W., Lotfali, E., Bagheri, R., Pircheraghi, G. (2022). Alginate-based multifunctional films incorporated with sulfur quantum dots for active packaging applications. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 215, Article 112519. <http://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2022.112519>
32. Oliveira Filho, J. G., Rodrigues, J. M., Valadares, A. C. F., de Almeida, A. B., de Lima, T. M., Takeuchi, K. P. et al. (2019). Active food packaging: Alginate films with cottonseed protein hydrolysates. *Food Hydrocolloids*, 92, 267–275. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2019.01.052>
33. Fan, X., Han, Y., Sun, Y., Zhang, T., Tu, M., Du, L. et al. (2023). Preparation and characterization of duck liver-derived antioxidant peptides based on LC-MS/MS, molecular docking, and machine learning. *LWT*, 175, Article 114479. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2023.114479>
34. Sun, J., Zhou, C., Cao, J., He, J., Sun, Y., Dang, Y. et al. (2022). Purification and characterization of novel antioxidative peptides from duck liver protein hydrolysate as well as their cytoprotection against oxidative stress in HepG2 cells. *Frontiers in Nutrition*, 9, Article 848289. <https://doi.org/10.3389/fnut.2022.848289>
35. Hu, Z., Cao, J., Liu, G., Zhang, H., Liu, X. (2020). Comparative transcriptome profiling of skeletal muscle from black Muscovy duck at different growth stages using RNA-seq. *Genes*, 11(10), Article 1228. <https://doi.org/10.3390/genes11101228>
36. Zhang, C., Wang, Z., Li, Y., Yang, Y., Ju, X., He, R. (2019). The preparation and physicochemical characterization of rapeseed protein hydrolysate-chitosan composite films. *Food Chemistry*, 272, 694–701. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.08.097>
37. da Rocha, M., Alemán, A., Romani, V. P., López-Caballero, M. E., Gómez-Guillén, M. C., Montero, P. et al. (2018). Effects of agar films incorporated with fish protein hydrolysate or clove essential oil on flounder (*Paralichthys orbignyanus*) fillets shelf-life. *Food Hydrocolloids*, 81, 351–363. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2018.03.017>
38. Kruk, J., Tkaczewska, J., Szuwarzyński, M., Mazur, T., Jamróz, E. (2023). Influence of storage conditions on functional properties of multilayer biopolymer films based on chitosan and furcellaran enriched with carp protein hydrolysate. *Food Hydrocolloids*, 135, Article 108214. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2022.108214>
39. Abdelhedi, O., Salem, A., Nasri, R., Nasri, M., Jridi, M. (2022). Food applications of bioactive marine gelatin films. *Current Opinion in Food Science*, 43, 206–215. <https://doi.org/10.1016/j.cofs.2021.12.005>
40. Salgado, P. R., Fernández, G. B., Drago, S., Mauri, A. N. (2011). Addition of bovine plasma hydrolysates improves the antioxidant properties of soybean and sunflower protein-based films. *Food Hydrocolloids*, 25(6), 1433–1440. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2011.02.003>

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ	AUTHOR INFORMATION
<b>Принадлежность к организации</b>	<b>Affiliation</b>
<p><b>Зинина Оксана Владимировна</b> — кандидат сельскохозяйственных наук, доцент, кафедра «Пищевые и биотехнологии», Южно-Уральский государственный университет (Национальный исследовательский университет) 454080, Челябинск, пр. Ленина, 76 Тел.: +7-906-871-36-81 E-mail: zininaov@susu.ru ORCID: <a href="https://orcid.org/0000-0003-4817-1645">https://orcid.org/0000-0003-4817-1645</a> * автор для контактов</p>	<p><b>Oksana V. Zinina</b>, Candidate of Agricultural Sciences, Docent, Department of “Food and Biotechnology”, South Ural State University (National Research University) 76, Lenin Av., 454080, Chelyabinsk, Russia Tel.: +7-906-871-36-81 E-mail: zininaov@susu.ru ORCID: <a href="https://orcid.org/0000-0003-4817-1645">https://orcid.org/0000-0003-4817-1645</a> * corresponding author</p>
<p><b>Меренкова Светлана Павловна</b> — кандидат ветеринарных наук, доцент, кафедра «Пищевые и биотехнологии», Южно-Уральский государственный университет (Национальный исследовательский университет) 454080, Челябинск, пр. Ленина, 76 Тел.: +7-951-813-70-62 E-mail: merenkovasp@susu.ru ORCID: <a href="https://orcid.org/0000-0002-8795-1065">https://orcid.org/0000-0002-8795-1065</a></p>	<p><b>Svetlana P. Merenkova</b>, Candidate of Veterinary Sciences, Docent, Department of “Food and Biotechnology”. South Ural State University (National Research University) 76, Lenin Av., 454080, Chelyabinsk, Russia Tel.: +7-951-813-70-62 E-mail: merenkovasp@susu.ru ORCID: <a href="https://orcid.org/0000-0002-8795-1065">https://orcid.org/0000-0002-8795-1065</a></p>
<p><b>Ребезов Максим Борисович</b> — доктор сельскохозяйственных наук, профессор, главный научный сотрудник, Федеральный научный центр пищевых систем им. В. М. Горбатова 109316, Москва, ул. Талалихина, 26 Тел.: +7-951-474-05-50 E-mail: rebezov@yandex.ru ORCID: <a href="https://orcid.org/0000-0003-0857-5143">https://orcid.org/0000-0003-0857-5143</a></p>	<p><b>Maksim B. Rebezov</b>, Doctor of Agricultural Sciences, Professor, Leading Researcher, V. M. Gorbatov Federal Research Center for Food Systems 26, Talalikhin str., 109316, Moscow, Russia Tel.: +7-999-900-23-65 E-mail: rebezov@yandex.ru ORCID: <a href="https://orcid.org/0000-0003-0857-5143">https://orcid.org/0000-0003-0857-5143</a></p>
<p><b>Вишнякова Елена Александровна</b> — студент, лаборант, Управление научной и инновационной деятельности, Южно-Уральский государственный университет (Национальный исследовательский университет) 454080, Челябинск, пр. Ленина, 76 Тел.: +7-912-772-15-61 E-mail: l_vishny@mail.ru ORCID: <a href="https://orcid.org/0000-0002-8557-9239">https://orcid.org/0000-0002-8557-9239</a></p>	<p><b>Elena A. Vishnyakova</b>, Student, Laboratory Assistant, Department of Scientific and Innovative Activities, South Ural State University (National Research University) 76, Lenin Av., 454080, Chelyabinsk, Russia Tel.: +7-91-772-15-61 E-mail: l_vishny@mail.ru ORCID: <a href="https://orcid.org/0000-0002-8557-9239">https://orcid.org/0000-0002-8557-9239</a></p>
<b>Критерии авторства</b>	<b>Contribution</b>
<p>Авторы в равных долях имеют отношение к написанию рукописи и одинаково несут ответственность за плагиат.</p>	<p>Authors equally relevant to the writing of the manuscript, and equally responsible for plagiarism.</p>
<b>Конфликт интересов</b>	<b>Conflict of interest</b>
<p>Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.</p>	<p>The authors declare no conflict of interest.</p>

DOI: <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2024-7-1-52-58>



Received 11.10.2023

Accepted for revised 01.03.2024

Accepted for publication 05.03.2024

© Capcanari T.N., Covaliov E.F., Negoita C.Iu., 2024

Available online at <https://www.fsjour.com/jour>

Review article

Open access

## HEMP (*CANNABIS SATIVA* L.) SEEDS NUTRITIONAL ASPECTS AND FOOD PRODUCTION PERSPECTIVES: A REVIEW

Tatiana N. Capcanari\*, Eugenia F. Covaliov, Cătălina Iu. Negoita

Technical University of Moldova, Chisinau, Republic of Moldova

**KEY WORDS:**  
culture, economy,  
food, functional  
properties,  
nutritional value

### ABSTRACT

This review is devoted to an analysis of the hemp (*Cannabis sativa* L.) seeds' nutritional aspects and food production perspectives, that can become a valuable source of multifunctional components for functional food production. *Cannabis sativa* L. is a multipurpose crop with low- environmental impact traditionally cultivated in Western cultures for fiber production. The propagation of synthetic fibers and the production of intoxicating drugs from certain narcotic strains resulted in the banning of its cultivation. Thus, culturing the varieties that are widely known as „industrial hemp“ has only been practiced for the past two decades. Hemp (*Cannabis sativa* L.) is grown not only for its economic importance but also for the seeds' nutritional value. Hemp seeds consists of 25–35% lipids with perfectly balanced fatty acids (FAs); 20–25% proteins, which are easy to digest and contain all essential amino acids; 20–30% carbohydrates, mainly dietary fiber; and vitamins and minerals. Besides its nutritional value, hempseed is also rich in antioxidants and bioactive compounds such as bioactive peptides, polyphenols with high free radicals scavenging activity, and cannabinoids. Therefore, this study reviews the scientific knowledge about *Cannabis sativa* L. seeds and their progressive aspects of cultivation, functional and therapeutic potential, and its use in functional food production.

**FUNDING:** The research was supported by Institutional Project 020405 “Optimizing food processing technologies in the context of the circular bioeconomy and climate change”, Bio-OpTehPAS, being implemented at the Technical University of Moldova.

Поступила 11.10.2023

Поступила после рецензирования 01.03.2024

Принята в печать 05.03.2024

© Капканарь Т.Н., Ковалёв Е.Ф., Негоица К.Ю., 2024

<https://www.fsjour.com/jour>

Обзорная статья

Open access

## АСПЕКТЫ ПИТАТЕЛЬНЫХ СВОЙСТВ И ПЕРСПЕКТИВЫ ПРИМЕНЕНИЯ СЕМЯН КОНОПЛИ (*CANNABIS SATIVA* L.) В ПРОИЗВОДСТВЕ ПРОДУКТОВ ПИТАНИЯ

Капканарь Т. Н.,\* Ковалёв Е. Ф., Негоица К. Ю.

Технический университет Молдовы, Кишинев, Республика Молдова

**КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА:** АННОТАЦИЯ

культура, экономика,  
продукты питания,  
функциональные  
свойства, пищевая  
ценность

Работа посвящена анализу питательных свойств семян конопли (*Cannabis sativa* L.) и перспектив ее применения в производстве продуктов питания, так как эти семена могут стать ценным источником многофункциональных компонентов для производства функциональных продуктов питания. *Cannabis sativa* L. — многоцелевая культура с низким уровнем воздействия на окружающую среду, традиционно выращиваемая в западных культурах для производства волокна. Распространение синтетических волокон и производство влияющих на сознание препаратов из некоторых наркосодержащих видов привело к запрету выращивания конопли. Таким образом, выращивание сортов конопли, широко известных как «техническая конопля», практикуется лишь в течение последних двух десятилетий. Коноплю (*Cannabis sativa* L.) выращивают не только из-за ее экономического значения, но и из-за пищевой ценности семян. Семена конопли состоят на 25–35% из липидов с идеально сбалансированными жирными кислотами (ЖК); на 20–25% из белков, которые легко усваиваются и содержат все незаменимые аминокислоты; на 20–30% из углеводов с высокой долей пищевых волокон, также из витаминов и минералов. Помимо своей питательной ценности, семена конопли также богаты антиоксидантами и биологически активными соединениями, такими как биоактивные пептиды, высокоактивные полифенолы, борющиеся со свободными радикалами, а также каннабиоиды. Таким образом, в этом исследовании рассматриваются научные данные о семенах конопли *Cannabis sativa* L. перспективных аспектах ее выращивания, функциональном и терапевтическом потенциале, а также данные о ее применении при производстве функциональных продуктов питания.

**ФИНАНСИРОВАНИЕ:** Исследование поддержано институциональным проектом 020405 “Оптимизация технологий переработки пищевых продуктов в контексте циклической биоэкономики и изменения климата”, Bio-OpTehPAS, реализуемым в Техническом университете Молдовы.

### 1. Introduction

*Cannabis sativa* L. originates from Central Asia and grows annually. Among the most exploited crops, hemp (*Cannabis sativa* L.) provides fiber, seeds, and wood pulp for a variety of commercial applications. The cultivated area has increased significantly from 1993 to 2012, reaching 34.960 ha in 2019. France and Germany account for 20.000 ha and 5.362 ha respectively. *Cannabis sativa* L. is climatically favorable for cultivation in the Republic of Moldova, however a number of legislative restrictions make its cultivation difficult. It is estimated that hemp (*Cannabis sativa* L.) harvest could generate about 10% of the state's revenue. As a result of the physicochemical and therapeutic properties, hemp (*Cannabis*

*sativa* L.) seeds are attracting increasing interest. Thus, they are a good source of vitamins and other nutrients with high proportion of proteins (20–30%) and essential fatty acids (50–55%). Throughout history, hemp (*Cannabis sativa* L.) has been used as the traditional food source in all parts of Europe. In addition to hemp (*Cannabis sativa* L.) seeds, its leaves, flowers and hemp extracts have been used for centuries as a food source and dietary supplement. Prior to the Industrial Revolution, hemp (*Cannabis sativa* L.) oil (extract) was one of the most commonly consumed vegetable oils, so hemp extracts and cannabinoids were highly consumed [1]. Italy, Germany, Lithuania, Poland, Sweden, and Slovakia, among others, have documented the benefits of hemp (*Cannabis sativa* L.) for human

FOR CITATION: Capcanari T. N., Covaliov E. F., Negoita C. Iu. (2024). Hemp (*Cannabis sativa* L.) seeds nutritional aspects and food production perspectives: A review. *Food Systems*, 7(1), 52-58. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2024-7-1-52-58>

Для ЦИТИРОВАНИЯ: Капканарь, Т. Н., Ковалёв, Е. Ф., Негоица, К. Ю. (2024). Аспекты питательных свойств и перспективы применения семян конопли (*Cannabis Sativa* L.) в производстве продуктов питания. *Пищевые системы*, 7(1), 52-58. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2024-7-1-52-58>

health [2]. Hemp has been found to have antioxidant, anti-inflammatory and neuroprotective effects. It has also been studied for its potential to reduce symptoms of anxiety, depression and chronic pain [3]. Additionally, hemp is a sustainable crop that can help reduce soil pollution [4]. Due to its characteristics perfect for making textile fibers and cordage, the crop was more popular in temperate regions. In contrast, its popularity in tropical regions is more limited due to its lower yield under those conditions. Along with flax, hemp (*Cannabis sativa* L.) is one of the oldest natural fibers used by human. Additionally, the UN Single Convention incorrectly listed hemp (*Cannabis sativa* L.) along with cannabis flower (marijuana) as a narcotic substance. Over the years, this has caused much confusion, since the cultivation of cannabis plants for industrial purposes clearly falls beyond international jurisdiction. Due to onerous licensing procedures, unclear EU and national regulations on hemp-derived food products, and burdensome licensing procedures, the industrial hemp sector (*Cannabis sativa* L.) has been severely restricted.

## 2. Materials and methods

The objects of study were the scientific publications of the foreign authors in the field of evaluation of new agro-industrial sources in order to obtain multifunctional biologically active compounds. PubMed, Scopus, Web of Science, Science Direct and open Internet sources were searched for the studies published between 2003 and 2023 using several combinations of keywords, including the following: *Cannabis sativa* L., hemp cultivation, functional and therapeutic potential, hemp composition, food waste, functional food products.

## 3. Results and discussions

### 3.1. The progressive aspects of the cultivation of *Cannabis sativa* L.

Industrial hemp (*Cannabis sativa* L.) has been cultivated in Europe for hundreds of years. In many European countries, such as Great Britain, France, the Netherlands, Germany, Spain, and Italy, Romania and Ukraine it was an important crop [5]. Hemp (*Cannabis sativa* L.) has also been cultivated by the Moldovans since the ancient times, used for food, roofing, clothing and livestock feed. Nowadays the cultivation of industrial hemp (*Cannabis sativa* L.) is prohibited in the Republic of Moldova. This leads to the stagnation of the sector and producers lose more opportunities. According to the Associations in question, hemp (*Cannabis sativa* L.) would ensure a profit of approximately 7 to 10 thousand euros per hectare, depending on the purpose of use. At the same time, it is a crop with increased resistance to drought, which would ensure the development of several sectors. About 10% of the state's income could be generated by this crop. Figure 1 shows the evolution of the cultivated area in the EU between 2015–2022.

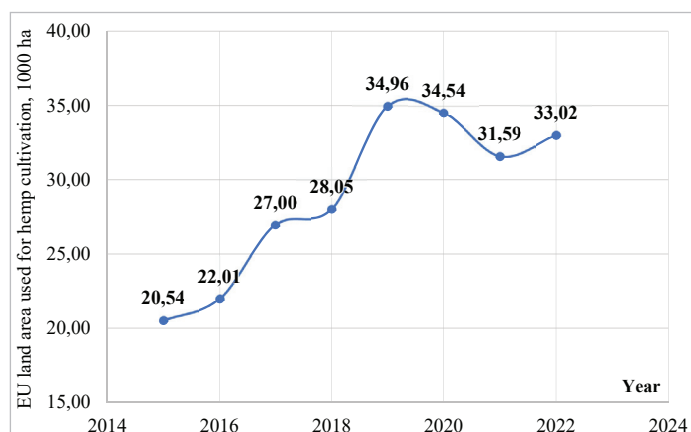


Figure 1. Hemp (*Cannabis sativa* L.) cultivation area in the EU2015–2022 [6]

Рисунок 1. Посевная площадь конопли (*Cannabis sativa* L.) на территории ЕС в 2015–2022 [6]

Most Member States legalized the cultivation of industrial hemp (*Cannabis sativa* L.) between 1993 and 1996, others followed later. Cultivated area fell to its lowest value since 1994 in 2011 (about 8.000 ha), but increased in 2012, 2013, 2014 and 2015, finally reaching over 34.96 ha in 2019. France, with an area of 20.00 ha of hemp, and Germany, with an area of 5.35 ha, are the main growing member states [6]. Romania is in the list of countries with 7%, namely 1130 ha. Recently, many new European countries have begun or developed hemp (*Cannabis sativa* L.) cultivation, primarily to produce hemp seeds [7].

Most of the raw material used by hemp processors comes from Europe. In Europe, dietary supplements are produced from more than half of the flowers and leaves being sold [8]. Because textiles are mainly niche markets, production is limited due to high raw material prices, fiber shortages, and production facilities shortages [9]. Before World War II, hemp fiber (*Cannabis sativa* L.) occupied huge share of the consumer market [10].

### 3.2. The functional and therapeutic potential of hemp seeds (*Cannabis sativa* L.)

In the food industry hemp seeds (*Cannabis sativa* L.) have limited applications due to both legislative restrictions and insufficient information on the composition and benefits of hemp seed compounds, so the newest processing methods have been developed to capitalize on their nutraceutical potential. In addition, production technologies are being developed that incorporate hemp seeds into the existing food products [11].

Hemp is the plant the vegetative parts of which can be exploited, constituting the raw material for diverse range of products (Figure 2). There is a need for better use of the organic production of hemp (*Cannabis sativa* L.) in the country, as well as taking advantage of the ecological effects of hemp (*Cannabis sativa* L.) cultivation in crop rotation [12].

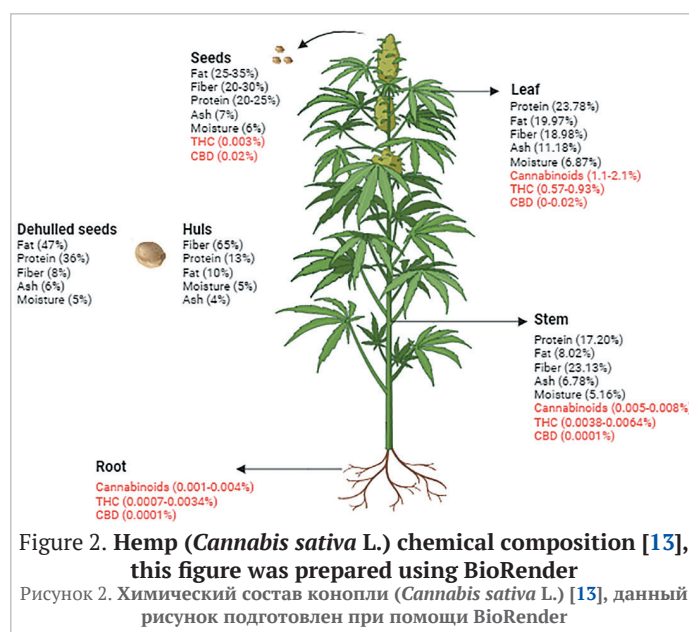


Figure 2. Hemp (*Cannabis sativa* L.) chemical composition [13], this figure was prepared using BioRender

Рисунок 2. Химический состав конопли (*Cannabis sativa* L.) [13], данный рисунок подготовлен при помощи BioRender

*Cannabis sativa* L. culture is cultivated for medicinal and industrial purposes [14]. Hemp (*Cannabis sativa* L.) seeds contain 35–45% lipids with the unique and perfectly balanced composition of fatty acids [15,16]. Depending on environmental and varietal factors, the protein content of whole hemp seeds (*Cannabis sativa* L.) can vary from 25–30% [17,18]. The total carbohydrate content of hemp seeds (*Cannabis sativa* L.) can vary between 20–30% [19]. It should be mentioned that it is of particular interest from the point of view of the content of vitamins B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, B<sub>6</sub> [20]. At the same time, 100 g of seeds contain the average daily dose of phosphorus, potassium, magnesium, manganese and zinc [12]. The chemical composition provides the hemp seeds (*Cannabis sativa* L.) high therapeutic effect. The amount of essential nutrients increases along with the elimination of the fat fraction [21]. After extracting hemp (*Cannabis sativa* L.) oil, oil cake, which has been recognized as one of the most valuable sources of protein, constitutes 45–55% [22], which is not used in the food industry in the Republic of Moldova, but is used only for feeding the livestock.

Among the fatty acid precursors of  $\omega$ -3 polyunsaturated fatty acids, stearidonic acid is found in *Cannabis sativa* L. seeds oils. An infant's development, health, and immunity depend on these fatty acids [22]. Researchers have investigated hemp seed oil (*Cannabis sativa* L.) for its effect on human health, but research on its effect on human nutrition is lacking.

This superfood is:

- very balanced;
- easy to digest;
- allergens free;
- suitable for vegans;
- with fast satiety effect;
- 95% digestible proteins produced locally, without processing;
- this superfood meets societal and environmental expectations [24,25].

According to genotypes and environmental conditions, certain studies have indicated that hemp seeds exhibit a great degree of heterogeneity in their content. For example, the authors Vonapartis E. et al. [26] describe hemp seeds as having a high content of protein (23.8–28.0 mg/g), lipids between 26.9–30.6 mg/g [26], but Mattila P. et al [27], indicates the amount of carbohydrates present in the seeds of *Cannabis sativa* L. being 34.4 mg/g, dietary fiber of 33.8 mg/g [28]. Instead, Lan Y. et al [29], states the protein content as 24.3–28.1 mg/g, lipids as 32.8–35.9 mg/g, carbohydrates as 32,5–3 7.5 mg/g [29].

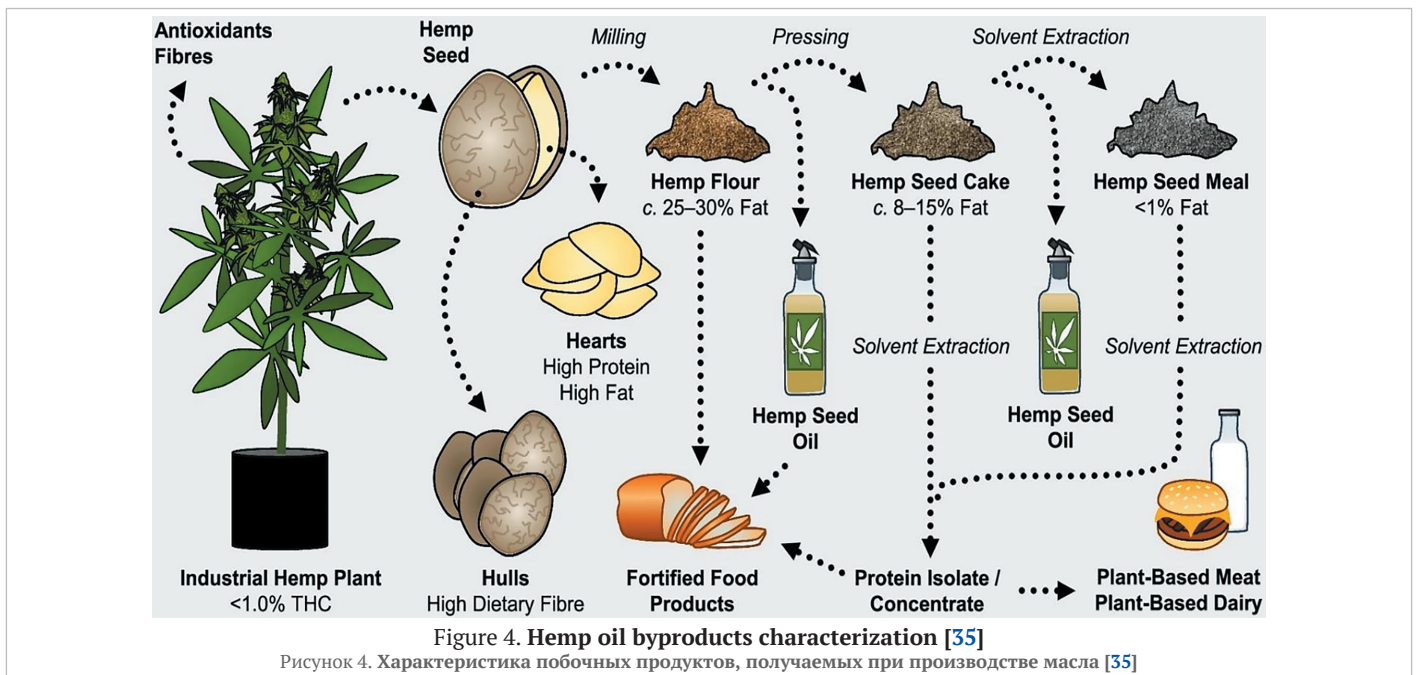
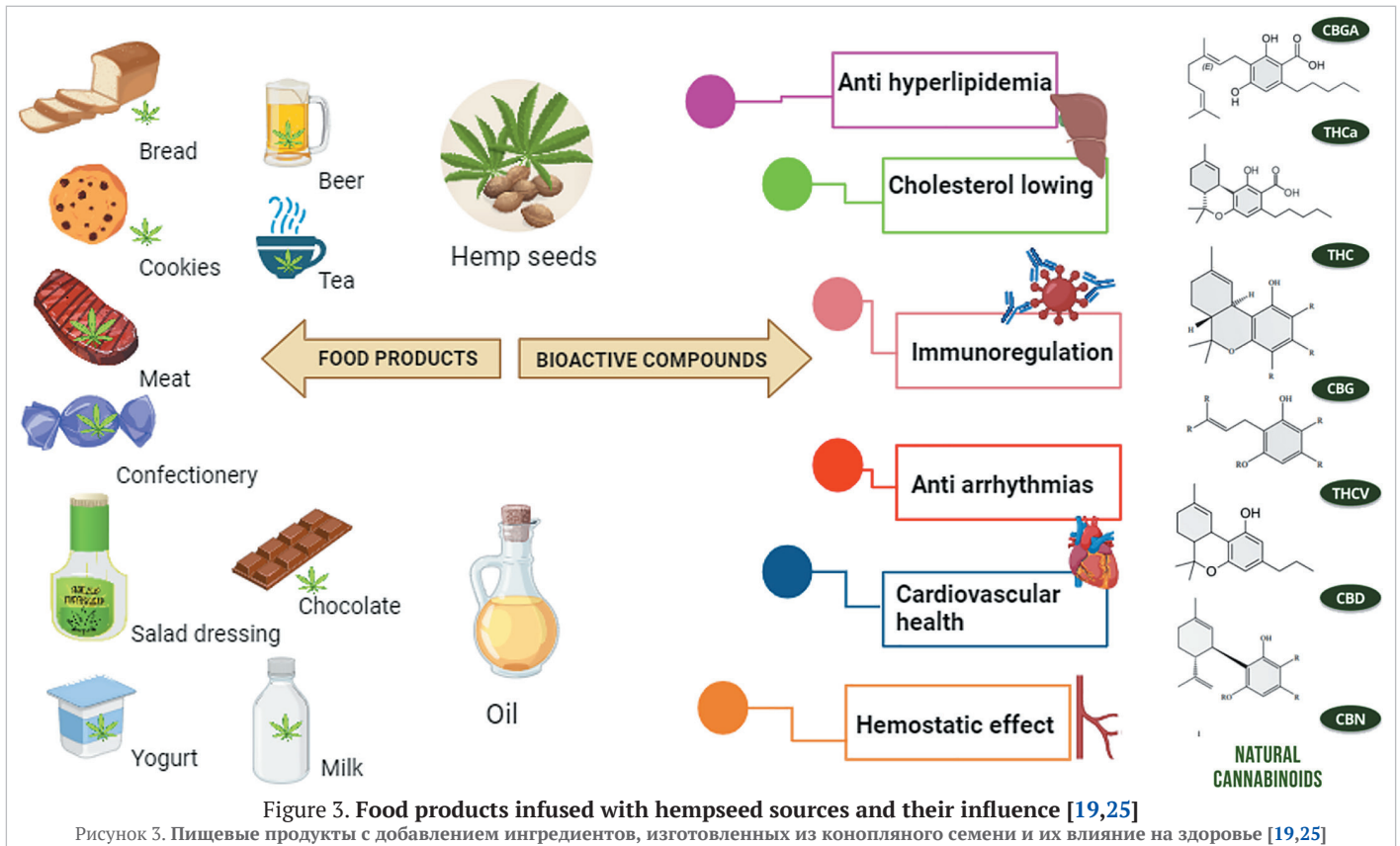
Organic hemp (*Cannabis sativa* L.) could set the way for a regional sector for the production and processing of gluten-free grains and foods (Figure 3).

The North American gluten-free food market is booming and supply is failing to meet demand. These products are demanded by people with celiac disease or gluten-induced enteropathy which affects almost 1% of

the population [30]. In addition, this type of „healthy“ food is gaining popularity among the general public, as it is increasingly used in the daily diet, either as a food supplement or as such in the preparation of pastry-confectionery products, flour-based bread of hemp (*Cannabis sativa* L.) and the use of hemp seed oil (*Cannabis sativa* L.) [31,32].

After processing the hemp seeds, several of by-products are obtained, which have an increased biological value compared to the seeds in terms of vegetable proteins, dietary fibers and minerals [33,34] (Figure 4).

In a variety of food applications, hemp-based ingredients have significant potential. Hemp seed can be used to produce a wide range of products [36]. As an alternative to milling hemp seed into flour, fractions enriched with oil and protein can also be isolated from whole or dehulled hemp seeds [37]. Additionally, interest in phytochemical extracts is rising as their importance and ways of application in nutrition and health become more widely understood [35].





In the food industry, hemp (*Cannabis sativa* L.) seeds are widely used as a means of enriching or fortifying food products. Derivatives as well as hemp (*Cannabis sativa* L.) seeds were evaluated as an added ingredient in products consumed daily, such as bakery products (bread, biscuits), energy bars, meat and meat products, yogurt. Concerning the nutritional quality of the products enriched with hemp (*Cannabis sativa* L.) flour, the addition of hemp (*Cannabis sativa* L.) seeds or derivatives was found to significantly change the nutritional quality, because it increases the total protein and fat content, total dietary fibers, both soluble and insoluble, the content of macroelements and trace elements such as: Mg and Ca, Mn, Cu, Fe and Zn.

### 3.3. Fatty acid composition

The fat content is one of the most important aspects of hemp (*Cannabis sativa* L.) seeds, especially from an industrial point of view. Hemp seeds (*Cannabis sativa* L.) are oleaginous fruits, thus the main food product of industrial value that could be obtained is hemp seed oil. For this reason, the fat obtained from hemp seeds (*Cannabis sativa* L.) is commonly called oil. More research proved that the fat amount of *Cannabis sativa* L. seeds ranges from 25 to 35% of the whole seed [38,27,39,40].

According to research published in the literature, hemp oil contains high concentration of polyunsaturated fatty acids (PUFA) in addition to low concentration of saturated fatty acids (SFA). In particular hemp oil contains up to (84%) unsaturated fatty acids depending on genotype and environmental conditions, the author Callaway reports [28]. Oleic acid (18:1,  $\omega$ -9, OA), the most abundant monounsaturated fatty acid (MUFA), was found to occupy the greatest share (18.78%) according to Lan et al. [29]. Linoleic acid (18:2,  $\omega$ -6, LA) was the most typical PUFA in hemp oil across all genotypes that were examined, accounting for 59% of the total fatty acids. The second prominent PUFA was  $\alpha$ -linolenic acid (18:3,  $\omega$ -3, ALA) with a percentage of 22% [40]. So, these two fatty acids, also known as essential fatty acids (EFA), are particularly abundant in hemp oil [41]. They are essential for maintaining a healthy human life and must be included into a diet. In order to meet our daily dietary needs, hemp seeds or derived products can be consumed.

### 3.4. Protein content

Depending on the environmental factors and variety, the protein content of whole hemp (*Cannabis sativa* L.) seeds can vary from 20 to 25% [42]. The amount can increase even more in some processed products, for example: shelled seeds, hemp meal (*Cannabis sativa* L.), that is, the remaining fraction of hemp (*Cannabis sativa* L.) seeds obtained after the extraction of its oil fraction [27,43].

Proteins are found predominantly in the inner layer of the hemp seed (*Cannabis sativa* L.), only a small share of proteins was found in the shell [11]. The high protein content found in processed products is a result of removal of those components that are devoid of protein, such as the hull, which is a rich source of fiber, thus its removal leads to an increase in the amount of protein and oil. A greater amount of protein is recorded when both the hull and the oil are removed [44].

While following the research stages, it was found that the temperature for denaturation of proteins isolated from hemp (*Cannabis sativa* L.) is equal to 92 °C. The heat treatment influences the structured characteristics of the proteins and their digestibility. High temperatures favor protein-protein interactions instead of protein-water interactions [45].

The main factors that indicate the quality of a protein are their bioavailability and digestibility. A number of authors studied the amino acid profile of hemp (*Cannabis sativa* L.) protein [46,47]. The analyzed product was the protein extracted from whole hemp (*Cannabis sativa* L.) seeds, and the protein isolate from commercial hemp, so that the obtained results are expressed either in regards to the whole seeds (g of amino acids per 100 g of seeds), or in regards to the total proteins (g of amino acids per 100 g of protein) [33].

The essential amino acids (EAA) needed by humans are all found in the proteins of hemp (*Cannabis sativa* L.) seeds. Glutamic acid (3.74–4.58% of whole seeds) and arginine (2.28–3.10% of whole seeds) are the two most important EAA [41]. Whole hemp (*Cannabis sativa* L.) seeds can be regarded as a rich source of protein that contains a higher or similar amount of protein found in other products, like buckwheat (27.8%), chia seeds (18.2–19.7%), quinoa (13.0%) [28], and flax seeds (20.9%) [29]. From a dietary perspective, the protein fraction of hemp (*Cannabis sativa* L.) seeds is quite digestible. Similar to casein, it contains an excellent profile of the essential amino acids required for the infants. In addition to the rich EAA the benefits offered by arginine should be noted.

The cardiovascular system's health depends dramatically on arginine, a potent regulator of vascular tone. The best immunological response and muscle recovery are related to arginine and nitric oxide, so it could be

mentioned that hemp (*Cannabis sativa* L.) seed protein is a crucial source of arginine that is easily absorbed [48]. Hemp (*Cannabis sativa* L.) seeds and the products derived from them (meal, protein isolate), being a rich source of protein, can be used in the vegetable-based diets [49].

### 3.5. Carbohydrates and dietary fiber content

Hemp seeds contain between 20 and 30 percent of total carbohydrates, most of which are dietary fiber, predominantly insoluble [47]. However, some scientists have noted that the high amount of fibers in hemp seeds may cause negative impact on the protein's ability to be digested [50]. On the other hand, it is especially important to keep in mind that eating dietary fiber has numerous positive effects on one's health. It improves insulin sensitivity being a functional product with microbial activity, has the potential to lower hunger and prevent excessive food consumption, decrease of the obesity and diabetes are just a few of these advantages. Finally, dietary fiber lowers total blood cholesterol and low-density lipoproteins. Because it is not digested in the small intestine, it passes into the large intestine and is fermented there by the gut microbiota, which creates short-chain fatty acids with anti-inflammatory and anticancer properties [51].

### 3.6. Mineral content

The mineral profile of (*Cannabis sativa* L.) seeds was analyzed by few researchers [52,53], but it was demonstrated that seeds are the rich source of necessary macro- and microminerals. The main minerals found in hemp (*Cannabis sativa* L.) seeds are: magnesium (Mg), potassium (K), sodium (Na), phosphorus (P), and calcium (Ca), and the trace elements are as follows: zinc (Zn), copper (Cu), iron (Fe), and manganese (Mn). The ash content was also analyzed in other oleaginous seeds, such as chia seeds [29] and flax seeds [54], while examining the obtained data it was noticed that hemp (*Cannabis sativa* L.) seeds feature the highest content per 100 g of the analyzed product (4.9–6.0/100 g for hemp (*Cannabis sativa* L.) seeds, 4.56–5.07 g/100 g for chia seeds and 3.5 g/100 g for flax seeds).

### 3.7. Phenolic content and free radicals scavenging activity

Regarding the functional potential, it has been shown that a large part of the phenolic compounds in hemp (*Cannabis sativa* L.) seeds have a high free radicals scavenging activity, particularly quercetin, the phenolic amide N-transferorilyramine, the lignanamides 3,3'-demethyl-grossamide, and 3,3'-demethylheliotropamide have the ability to inhibit the enzyme acetylcholinesterase (AChE) *in vitro* at a concentration of 100  $\mu$ g/ml, showing similarities to the properties of the medications used to treat mild to moderate Alzheimer's disease (AD) [55].

According to some research, N-trans-caffeoyltyramine, which is derived from hemp (*Cannabis sativa* L.) meal, was discovered to have the highest antioxidant and arginase inhibitory action. In addition to improving endothelial functionality and decreasing oxidative stress, which is a key factor in the initiation and progression of endothelial dysfunction associated with a variety of disorders, including cardiovascular disease, arginase inhibition may boost bioavailability of nitric oxide (NO) [56]. Phenylpropionamides extracted from hemp (*Cannabis sativa* L.) are thought to have anti-inflammatory and neuroprotective properties, which are the most significant biological impacts. Thus N-trans-caffeoyltyramine exhibit DPPH free radicals scavenging activity and ORAC antioxidant activity, LDL protection against oxidation, arginase inhibitory activity, and *in vitro* prevention of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> induced cell death [57,58,59,60]; N-trans feroryltyramine, N-trans-caffeolactopamine, N-trans-coumaroyltyramine, Cannabisin A, B, C, D and E present in *Cannabis sativa* L. seeds have anti-neuroinflammatory action *in vivo*, DPPH free radical scavenging activity [17,56,61–65]; Sativamide A and B can reduce cell death induced by endoplasmic reticulum (ER) stress [57]; coumaroylaminobutanol glucopyranoside might decrease the nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of inflammatory pathway of activated B cells (NF- $\kappa$ B) and activate of the Nfr-2 antioxidant pathway [64].

From a chemical standpoint the sativamides A and B, which are the unique bioactive hemp (*Cannabis sativa* L.) substances, are non-lignanamide molecules produced from N-trans-caffeoyltyramine. Pretreatment of the human neuroblastoma cell line SH-SY5Y with 50  $\mu$ M of sativamide A or B demonstrated its ability to prevent cell mortality induced by endoplasmic reticulum stress, which has been proven to play a major role in neurodegenerative disorders such as Parkinson's and Alzheimer's disease (AD) [56,62].

The neuroprotective effect of various phytochemicals obtained from hemp (*Cannabis sativa* L.) has demonstrated to be specifically connected to some of the listed chemicals' ability to reduce inflammation and to function as antioxidants onto microglia cells, which are immune cells of the brain's central nervous system that control immunological reactions,

thus having a significant impact on brain inflammation and brain infection. Multiple sclerosis, in reality, is characterized by chronic inflammation and oxidative stress, and the persistence and overactivation of these cells are frequently connected to the destruction of neurons and the emergence of neurodegenerative disorders, such as AD and Parkinson's disease [62].

### 3.8. Bioactive hemp (*Cannabis sativa* L.) seed peptides content

Bioactive peptides are functional components found in hemp (*Cannabis sativa* L.) seeds in addition to phenolic substances. Hydrolyzed proteins of hemp seeds (*Cannabis sativa* L.) showed high bioactive properties [66], including antioxidant [44], antihypertensive [67], antiproliferative [68], hypocholesterolemic [69,70], anti-inflammatory and neuroprotective [69].

These researches demonstrate that bioactive peptides are scattered in the local design of proteins and are delivered during the hydrolysis cycle. Contingent upon the hydrolysis conditions, hydrolysates with different kinds and levels of action proficiency can be gotten. This is because the hydrolysis conditions can impact the sort of peptides obtained, to be specific the size and profile of the amino acids, subsequently the design which thus impacts the movement and capability of the peptides.

Another bioactive property attributed to the hemp (*Cannabis sativa* L.) protein hydrolyzate was its antihypertensive activity [42]. After some researches it was discovered that the majority of bioactive peptides that may inhibit renin and proteases — angiotensin-I-converting enzyme (ACE) comprised of three or four amino acids as well as of certain structural traits related to their amino acid sequence.

In conclusion of this clause, *in vitro* and some *in vivo* studies have shown the functional benefits of protein hydrolysates and peptides extracted from hemp (*Cannabis sativa* L.) seeds, the stability of peptides in the gastrointestinal system and their bioavailability, namely their capacity to arrive at the desired location in an active and functional state, have not yet been studied in humans.

### 3.9. Cannabinoids content

*Cannabis sativa* L. contains over 120 cannabinoids, each having the unique effect on the human body. Cannabidiol (CBD) is one of the most abundant cannabinoids that do not cause any harmful side effects, followed by Tetrahydrocannabinol (THC), the psychotropic substance of hemp (*Cannabis sativa* L.).

The therapeutic application of cannabinoids is a very controversial subject, because despite the therapeutic properties, these compounds also have psychotropic effects. Two examples of drugs developed based on cannabinoid compounds are Marinol® (Dronabinol, (-)-D9-THC), developed by Roxane (Columbus, USA) and Cesamet® (Nabilone), developed by Eli Lilly (Indianapolis, USA) and currently released for therapeutic use in

Great Britain. Medicines are marketed to control vomiting caused by chemotherapy treatments and as appetite stimulants to beat anorexia processes developed in patients with acquired immunodeficiency syndrome (AIDS) [71].

Although, cannabinoids have a direct impact on a variety of human vital systems, such as the immunological and reproductive. The central nervous system is the primary target of cannabinoids' pharmacological effects [72]. Cannabinoids have been found to have an analgesic effect [73], that participates in the control of spasms in patients with multiple sclerosis [74], it provides positive effect in the treatment of glaucoma, it has bronchodilator and anticonvulsant effects [75]. Some adverse reactions may also occur, such as: cognitive and memory changes, euphoria, depression, sedative effect and others [76].

Despite their multiple therapeutic properties, cannabinoids also have psychotropic properties as a side effect, thus limiting their use as medicine in many countries of the world. However, studies are being carried out on the relationship between the chemical structure and biological activity, with the aim of modifying the structure and suppressing its psychoactivity. The study of structure-activity relationships (SAR) aims to establish relationships between the molecular descriptors and the biological activity in question, helping to elucidate the mechanism of action of cannabinoid compounds [77].

## 4. Conclusion

*Cannabis sativa* L. culture is cultivated in almost all countries of the world for medicinal and industrial purposes. The cultivation of this crop has a beneficial effect on the soil, increasing its fertility for the further growth of other crops.

As the nutritional and therapeutic benefits of hemp (*Cannabis sativa* L.) were researched and recognized, the interest of the population and the production of hemp (*Cannabis sativa* L.) seeds increased, they are currently used even in the food industry, in the production of oil, flour, protein extract, milk or simply used as an additive food.

Hemp (*Cannabis sativa* L.) seeds contain 25–35% lipids with the unique, perfectly balanced composition of fatty acids (FA); 20–25% easily digestible proteins that are abundant in essential amino acids; 20–30% of carbohydrates, large part of which are made up of dietary fibers, mostly insoluble; as well as vitamin B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, B<sub>6</sub> and minerals. 100 g of seeds contain the average daily rate of phosphorus, potassium, magnesium and manganese. This content of vitamins and minerals provides hemp (*Cannabis sativa* L.) seeds with high therapeutic effect.

Although it has been proven by research to be a functional and therapeutic product, the side effect, i. e. psychoactivity as well as the name itself, still serves as an obstacle regarding the wide use of *Cannabis sativa* L. plant derivatives for therapeutic purposes and in the food industry.

## REFERENCES

- Farinon, B., Molinari, R., Costantini, L., Merendino, N. (2020). The seed of industrial hemp (*Cannabis sativa* L.): Nutritional quality and potential functionality for human health and nutrition. *Nutrients*, 12(7), Article 1935. <https://doi.org/10.3390/nu12071935>
- Landucci, E., Mazzantini, C., Lana, D., Davolio, P. L., Giovannini, M. G., Pellegrini-Giampietro, D. E. (2021). Neuroprotective effects of cannabidiol but not  $\delta^9$ -tetrahydrocannabinol in rat hippocampal slices exposed to oxygen-glucose deprivation: Studies with cannabis extracts and selected cannabinoids. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(18), Article 9775. <https://doi.org/10.3390/ijms22189775>
- Stasiłowicz-Krzemień, A., Sip, S., Szulc, P., Cielecka-Piontek, J. (2023). Determining antioxidant activity of cannabis leaves extracts from different varieties — unveiling nature's treasure trove. *Antioxidants*, 12(7), Article 1390. <https://doi.org/10.3390/antiox12071390>
- Golia, E. E., Bethanis, J., Ntinopoulos, N., Kaffe, G.-G., Komnou, A. A., Vasilou, C. (2023). Investigating the potential of heavy metal accumulation from hemp. The use of industrial hemp (*Cannabis Sativa* L.) for phytoremediation of heavily and moderately polluted soils. *Sustainable Chemistry and Pharmacy*, 31, Article 100961. <https://doi.org/10.1016/j.scp.2022.100961>
- Negoita, C., Capcanari, T., Chirsanova, A., Covaliov, E., Siminiuc, R. (June 3, 2022). The agro-industrial potential of *Cannabis Sativa* L. cultivation in the Republic of Moldova. International Scientific Conference «Perspectives and Problems of Integration in the European Research and Education Area, Cahul, Republic of Moldova, 2022.
- Eurostat. (2023). Hemp production in the EU. Agriculture and rural development. Retrieved from [https://agriculture.ec.europa.eu/farming/crop-productions-and-plant-based-products/hemp\\_en](https://agriculture.ec.europa.eu/farming/crop-productions-and-plant-based-products/hemp_en) Accessed September 16, 1023
- Baldini, M., Ferua, C., Zuliani, F., Danuso, F. (2020). Suitability assessment of different hemp (*Cannabis sativa* L.) varieties to the cultivation environment. *Industrial Crops and Products*, 143, Article 111860. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2019.111860>
- Kaur, G., Kander, R. (2023). The sustainability of industrial hemp: A literature review of its economic, environmental, and social sustainability. *Sustainability*, 15(8), Article 6457. <https://doi.org/10.3390/su15086457>
- Veit, D. (2023). Bast Fibers. Chapter in a book: *Fibers*. Springer, Cham. 2023. [https://doi.org/10.1007/978-3-031-15309-9\\_6](https://doi.org/10.1007/978-3-031-15309-9_6)
- Small, E. (2015). Evolution and classification of *Cannabis sativa* (Marijuana, Hemp) in relation to human utilization. *The Botanical Review*, 81(3), 189–294. <https://doi.org/10.1007/s12229-015-9157-3>
- Shen, P., Gao, Z., Fang, B., Rao, J., Chen, B. (2021). Ferretting out the secrets of industrial hemp protein as emerging functional food ingredients. *Trends in Food Science and Technology*, 1–15. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2021.03.022>
- Capcanari, T., Chirsanova, A., Negoita, C., Covaliov, E., Siminiuc, R. (October 20–22, 2022). *Agro-industrial potential of Cannabis Sativa L. seeds as a source of biological active substances*. International Conference Modern Technologies in the Food Industry, TUM, Chisinau, 2022.
- Rusu, I.-E., Marc (Vlaic), R. A., Mureşan, C. C., Mureşan, A. E., Filip, M. R., Onica, B.-M. et al. (2021). Advanced characterization of hemp flour (*Cannabis sativa* L.) from dacia secuieni and zenit varieties, compared to wheat flour. *Plants*, 10(6), Article 1237. <https://doi.org/10.3390/plants10061237>
- Crini, G., Lichtfouse, E., Chanet, G., Morin-Crini, N. (2020). Traditional and New Applications of Hemp. Chapter in a book: *Sustainable Agriculture Reviews 42*. Springer International Publishing, 2020. [https://doi.org/10.1007/978-3-030-41384-2\\_2](https://doi.org/10.1007/978-3-030-41384-2_2)
- Alonso-Ésteban, J. I., González-Fernández, M. J., Fabrikov, D., de Cortes Sánchez-Mata, M., Torija-Isasa, E., Guil-Guerrero, J. L. (2023). Fatty acids and minor functional compounds of hemp (*Cannabis sativa* L.) seeds and other Cannabaceae species. *Journal of Food Composition and Analysis*, 115, Article 104962. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2022.104962>
- Golimowski, W., Teleszko, M., Zajac, A., Kmiecik, D., Grygier, A. (2023). Effect of the bleaching process on changes in the fatty acid profile of raw hemp seed oil (*Cannabis sativa*). *Molecules*, 28(2), Article 769. <https://doi.org/10.3390/molecules28020769>
- Chen, T., He, J., Zhang, J., Li, X., Zhang, H., Hao, J., Li, L. (2012). The isolation and identification of two compounds with predominant radical scavenging activity in hempseed (seed of *Cannabis sativa* L.). *Food Chemistry*, 134(2), 1030–1037. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.03.009>

18. Liu, M., Childs, M., Loos, M., Taylor, A., Smart, L. B., Abbaspourrad, A. (2023). The effects of germination on the composition and functional properties of hemp seed protein isolate. *Food Hydrocolloids*, 134, Article 108085. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2022.108085>
19. Sciacca, F., Virzi, N., Pecchioni, N., Melilli, M. G., Buzzanca, C., Bonacci, S. et al. (2023). Functional end-use of hemp seed waste: Technological, qualitative, nutritional, and sensorial characterization of fortified bread. *Sustainability*, 15(17), Article 12899. <https://doi.org/10.3390/su151712899>
20. Tura, M., Mandrioli, M., Valli, E., Toschi, T.G. (2023). Quality indexes and composition of 13 commercial hemp seed oils. *Journal of Food Composition and Analysis*, 117, Article 105112. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2022.105112>
21. Aloo, S. O., Kwame, F. O., Oh, D.-H. (2023). Identification of possible bioactive compounds and a comparative study on in vitro biological properties of whole hemp seed and stem. *Food Bioscience*, 51, Article 102329. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2022.102329>
22. Burton, R. A., Andres, M., Cole, M., Cowley, J. M., Augustin, M. A. (2022). Industrial hemp seed: From the field to value-added food ingredients. *Journal of Cannabis Research*, 4(1), Article 45. <https://doi.org/10.1186/s42238-022-00156-7>
23. Smulek, W., Jarzębski, M. (2023). Hemp seed oil nanoemulsion with *Sapindus* saponins as a potential carrier for iron supplement and vitamin D. *Reviews on Advanced Materials Science*, 62(1), Article 20220317. <https://doi.org/10.1515/rams-2022-0317>
24. Rupasinghe, H. P. V., Davis, A., Kumar, S. K., Murray, B., Zheljzakov, V. D. (2020). Industrial hemp (*Cannabis sativa* subsp. *Sativa*) as an emerging source for value-added functional food ingredients and nutraceuticals. *Molecules*, 25(18), Article 4078. <https://doi.org/10.3390/molecules25184078>
25. Vigil, J. M., Montero, M. A., Pentkowsky, N. S., Diviant, J. P., Orozco, J., Ortiz, A. L. et al. (2020). The therapeutic effectiveness of full spectrum hemp oil using a chronic neuropathic pain model. *Life*, 10(5), Article 69. <https://doi.org/10.3390/life10050069>
26. Vonapartis, E., Aubin, M.-P., Seguin, P., Mustafa, A. F., Charron, J.-B. (2015). Seed composition of ten industrial hemp cultivars approved for production in Canada. *Journal of Food Composition and Analysis*, 39, 8–12. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2014.11.004>
27. Mattila, P., Mäkinen, S., Euroala, M., Jalava, T., Pihlava, J.-M., Hellström, J. et al. (2018). Nutritional value of commercial protein-rich plant products. *Plant Foods for Human Nutrition*, 73(2), 108–115. <https://doi.org/10.1007/s11130-018-0660-7>
28. Callaway, J. C. (2004). Hempseed as a nutritional resource: An overview. *Euphytica*, 140, 65–72. <https://doi.org/10.1007/s10681-004-4811-6>
29. Lan, Y., Zha, F., Peckrul, A., Hanson, B., Johnson, B., Rao, J. et al. (2019). Genotype x environmental effects on yielding ability and seed chemical composition of industrial hemp (*Cannabis sativa* L.) varieties grown in North Dakota, USA. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 96(12), 1417–1425. <https://doi.org/10.1002/aocs.12291>
30. Makovicky, P., Makovicky, P., Caja, F., Rimarova, K., Samasca, G., Vannucci, L. (2020). Celiac disease and gluten-free diet: Past, present, and future. *Gastroenterology and Hepatology from Bed to Bench*, 13(1), 1–7.
31. Amaducci, S., Zatta, A., Pelatti, F., Venturi, G. (2008). Influence of agronomic factors on yield and quality of hemp (*Cannabis sativa* L.) fibre and implication for an innovative production system. *Field Crops Research*, 107(2), 161–169. <https://doi.org/10.1016/j.fcr.2008.02.002>
32. Palomares-Navarro, M. J., Sánchez-Quezada, V., Palomares-Navarro, J. J., Ayala-Zavala, J. F., Loarca-Piña, G. (2023). Nutritional and nutraceutical properties of selected pulses to promote gluten-free food products. *Plant Foods for Human Nutrition*, 78(2), 253–260. <https://doi.org/10.1007/s11130-023-01060-y>
33. Liu, M., Toth, J. A., Childs, M., Smart, L. B., Abbaspourrad, A. (2023). Composition and functional properties of hemp seed protein isolates from various hemp cultivars. *Journal of Food Science*, 88(3), 942–951. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.16467>
34. Capcanari, T., Covaliov, E., Negoita, C., Siminiuc, R., Chirsanova, A., Reșitca, V. et al. (2023). Hemp seed cake flour as a source of proteins, minerals and polyphenols and its impact on the nutritional, sensorial and technological quality of bread. *Foods*, 12, Article 4327. <https://doi.org/10.3390/foods12234327>
35. Burton, R.A., Andres, M., Cole, M., Cowley, J.M., Augustin, M.A. (2022). Industrial hemp seed: From the field to value-added food ingredients. *Journal of Cannabis Research*, 4, Article 45. <https://doi.org/10.1186/s42238-022-00156-7>
36. Al Ubeed, H. M. S., Brennan, C. S., Schanknecht, E., Alsherbiny, M. A., Saifullah, M., Nguyen, K. et al. (2022). Potential applications of hemp (*Cannabis sativa* L.) extracts and their phytochemicals as functional ingredients in food and medicinal supplements: A narrative review. *International Journal of Food Science and Technology*, 57(12), 7542–7555. <https://doi.org/10.1111/ijfs.16116>
37. Neacsu, M., Christie, J. S., Duncan, G. J., Vaughan, N. J., Russell, W. R. (2022). Buckwheat, fava bean and hemp flours fortified with anthocyanins and other bioactive phytochemicals as sustainable ingredients for functional food development. *Nutraceuticals*, 2(3), 150–161. <https://doi.org/10.3390/nutraceuticals2030011>
38. Amaral, J. S., Casal, S., Pereira, J. A., Seabra, R. M., Oliveira, B. P. P. (2003). Determination of sterol and fatty acid compositions, oxidative stability, and nutritional value of six walnut (*Juglans regia* L.) cultivars grown in Portugal. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51(26), 7698–7702. <https://doi.org/10.1021/jf030451d>
39. Porto, C. D., Decorti, D., Natolino, A. (2015). Potential oil yield, fatty acid composition, and oxidation stability of the hempseed oil from four *Cannabis sativa* L. cultivars. *Journal of Dietary Supplements*, 12(1), 1–10. <https://doi.org/10.3109/19390211.2014.887601>
40. Siano, F., Moccia, S., Picariello, G., Russo, G., Sorrentino, G., Di Stasio, M. et al. (2018). Comparative study of chemical, biochemical characteristic and ATR-FTIR analysis of seeds, oil and flour of the edible fedora cultivar hemp (*Cannabis sativa* L.). *Molecules*, 24(1), Article 85. <https://doi.org/10.3390/molecules24010083>
41. Kriesse, U., Schumann, E., Weber, W. E., Beyer, M., Brühl, L., Matthäus. (2004). Oil content, tocopherol composition and fatty acid patterns of the seeds of 51 *Cannabis sativa* L. genotypes. *Euphytica*, 137(3), 339–351. <https://doi.org/10.1023/B:EUPH.0000040473.23941.76>
42. Malomo, S., Onuh, J., Girgih, A., Aluko, R. (2015). Structural and antihypertensive properties of enzymatic hemp seed protein hydrolysates. *Nutrients*, 7(9), 7616–7632. <https://doi.org/10.3390/nu7095358>
43. Chen, H., Xu, B., Wang, Y., Li, W., He, D., Zhang, Y. et al. (2023). Emerging natural hemp seed proteins and their functions for nutraceutical applications. *Food Science and Human Wellness*, 12(4), 929–941. <https://doi.org/10.1016/j.fshw.2022.10.016>
44. Tang, C.-H., Ten, Z., Wang, X.-S., Yang, X.-Q. (2006). Physicochemical and functional properties of hemp (*Cannabis sativa* L.) protein isolate. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54(23), 8945–8950. <https://doi.org/10.1021/jf0619176>
45. Choo, W.-S., Birch, J., Dufour, J.-P. (2007). Physicochemical and quality characteristics of cold-pressed flaxseed oils. *Journal of Food Composition and Analysis*, 20(3–4), 202–211. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2006.12.002>
46. Banskota, A. H., Tibbetts, S. M., Jones, A., Stefanova, R., Behnke, J. (2022). Biochemical characterization and in vitro digestibility of protein isolates from hemp (*Cannabis sativa* L.) by-products for salmonid feed applications. *Molecules*, 27(15), Article 4794. <https://doi.org/10.3390/molecules27154794>
47. Reggio, P.H. (2003). Pharmacophores for ligand recognition and activation / inactivation of the cannabinoid receptors. *Current Pharmaceutical Design*, 9(20), 1607–1633. <https://doi.org/10.2174/1381612033454577>
48. Rizzo, G., Storz, M. A., Calapai, G. (2023). The role of hemp (*Cannabis sativa* L.) as a functional food in vegetarian nutrition. *Foods*, 12(18), Article 3505. <https://doi.org/10.3390/foods12183505>
49. House, J. D., Neufeld, J., Leson, G. (2010). Evaluating the quality of protein from hemp seed (*Cannabis sativa* L.) products through the use of the protein digestibility-corrected amino acid score method. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58(22), 11801–11807. <https://doi.org/10.1021/jf102636b>
50. Schultz, C. J., Lim, W. L., Khor, S. F., Neumann, K. A., Schulz, J. M., Ansari, O. et al. (2020). Consumer and health-related traits of seed from selected commercial and breeding lines of industrial hemp, *Cannabis sativa* L. *Journal of Agriculture and Food Research*, 2, Article 100025. <https://doi.org/10.1016/j.jafr.2020.100025>
51. Mattila, P. H., Pihlava, J.-M., Hellström, J., Nurmi, M., Euroala, M., Mäkinen, S. et al. (2018). Contents of phytochemicals and antinutritional factors in commercial protein-rich plant products. *Food Quality and Safety*, 2(4), 213–219. <https://doi.org/10.1093/fqsafe/fyy021>
52. Alonso-Esteban, J. I., Torija-Isasa, M. E., de Cortes Sánchez-Mata, M. (2022). Mineral elements and related antinutrients, in whole and hulled hemp (*Cannabis sativa* L.) seeds. *Journal of Food Composition and Analysis*, 109, Article 104516. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2022.104516>
53. Bernstein, N., Gorelick, J., Zerahia, R., Koch, S. (2019). Impact of N, P, K, and humic acid supplementation on the chemical profile of medical cannabis (*Cannabis sativa* L.). *Frontiers in Plant Science*, 10, Article 736. <https://doi.org/10.3389/fpls.2019.00736>
54. Rubilar, M., Gutiérrez, C., Verdugo, M., Shene, C., Sineiro, J. (2010). Flaxseed as a source of functional ingredients. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*, 10(3), 373–377. <https://doi.org/10.4067/S0718-95162010000100010>
55. Ma, Z. F., Zhang, H., Teh, S. S., Wang, C. W., Zhang, Y., Hayford, F. et al. (2019). Goji berries as a potential natural antioxidant medicine: An insight into their molecular mechanisms of action. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2019, Article 2437397. <https://doi.org/10.1155/2019/2437397>
56. Smeriglio, A., Galati, E. M., Monforte, M. T., Lanuzza, F., D'Angelo, V., Circosta, C. (2016). Polyphenolic compounds and antioxidant activity of cold-pressed seed oil from finola cultivar of *Cannabis sativa* L. *Phytotherapy Research*, 30(8), 1298–1307. <https://doi.org/10.1002/ptr.5623>
57. Frassinetti, S., Moccia, E., Caltavuturo, L., Gabriele, M., Longo, V., Bellani, L. et al. (2018). Nutritional potential of hemp (*Cannabis sativa* L.) seeds and sprouts. *Food Chemistry*, 262, 56–66. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.04.078>
58. Moccia, S., Siano, F., Russo, G. L., Volpe, M. G., La Cara, F., Pacifico, S. et al. (2020). Antiproliferative and antioxidant effect of polar hemp extracts (*Cannabis sativa* L., Fedora cv.) in human colorectal cell lines. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 71(4), 410–423. <https://doi.org/10.1080/09637486.2019.1666804>
59. Russo, R., Reggiani, R. (2013). Variability in antinutritional compounds in hempseed meal of Italian and French varieties. *Plant*, 1(2), 25–29. <https://doi.org/10.11648/j.plant.20130102.13>
60. Yu, L. L., Zhou, K. K., Parry, J. (2005). Antioxidant properties of cold-pressed black caraway, carrot, cranberry, and hemp seed oils. *Food Chemistry*, 91(4), 723–729. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2004.06.044>
61. Bourjot, M., Zedet, A., Demange, B., Pudlo, M., Girard-Thernier, C. (2016). In Vitro mammalian arginase inhibitory and antioxidant effects of amide derivatives isolated from the hempseed cakes (*Cannabis sativa*). *Planta Medica International Open*, 3(03), e64–e67. <https://doi.org/10.1055/s-0042-119400>
62. Luo, Q., Yan, X., Bobrovskaya, L., Ji, M., Yuan, H., Lou, H. et al. (2017). Anti-neuroinflammatory effects of grossamide from hemp seed via suppression of TLR-4-mediated NF- $\kappa$ B signaling pathways in lipopolysaccharide-stimulated BV2 microglia cells. *Molecular and Cellular Biochemistry*, 428(1–2), 129–137. <https://doi.org/10.1007/s11010-016-2923-7>
63. Maiolo, S. A., Fan, P., Bobrovskaya, L. (2018). Bioactive constituents from cinnamon, hemp seed and polygonum cuspidatum protect against H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> but not rotenone toxicity in a cellular model of Parkinson's disease. *Journal of Traditional and Complementary Medicine*, 8(3), 420–427. <https://doi.org/10.1016/j.jtcm.2017.11.001>
64. Wang, S., Luo, Q., Fan, P. (2019). Cannabisin F from hemp (*Cannabis sativa*) seed suppresses lipopolysaccharide-induced inflammatory responses in BV2 microglia as SIRT1 modulator. *International Journal of Molecular Sciences*, 20(3), Article 507. <https://doi.org/10.3390/ijms20030507>
65. Yan, X., Tang, J., dos Santos Passos, C., Nurisso, A., Simões-Pires, C. A., Ji, M. et al. (2015). Characterization of lignanamides from hemp (*Cannabis sativa* L.) seed and their antioxidant and acetylcholinesterase inhibitory activities. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 63(49), 10611–10619. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.5b05282>
66. Pontonio, E., Verni, M., Dingo, C., Diaz-de-Cerio, E., Pinto, D., Rizzello, C. G. (2020). Impact of enzymatic and microbial bioprocessing on antioxidant properties of hemp (*Cannabis sativa* L.). *Antioxidants*, 9(12), Article 1258. <https://doi.org/10.3390/antiox9121258>
67. Teh, S.-S., Bekhit, A. E.-D. A., Carne, A., Birch, J. (2016). Antioxidant and ACE-inhibitory activities of hemp (*Cannabis sativa* L.) protein hydrolysates produced by the proteases AFP, HT, Pro-G, actinidin and zingibain. *Food Chemistry*, 203, 199–206. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.02.057>

68. Logarušić, M., Slivac, I., Radošević, K., Bagović, M., Redovniković, I. R., Srček, V. G. (2019). Hempseed protein hydrolysates' effects on the proliferation and induced oxidative stress in normal and cancer cell lines. *Molecular Biology Reports*, 46(6), 6079–6085. <https://doi.org/10.1007/s11033-019-05043-8>

69. Rodriguez-Martin, N. M., Toscano, R., Villanueva, A., Pedroche, J., Millan, F., Montserrat-de La Paz, S. et al. (2019). Neuroprotective protein hydrolysates from hemp (*Cannabis sativa* L.) seeds. *Food and Function*, 10(10), 6732–6739. <https://doi.org/10.1039/C9FO01904A>

70. Zanoni, C., Aiello, G., Arnoldi, A., Lammi, C. (2017). Hempseed peptides exert hypocholesterolemic effects with a statin-like mechanism. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 65(40), 8829–8838. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.7b02742>

71. Palmer, S. L., Thakur, G. A., Makriyannis, A. (2002). Cannabinergic ligands. *Chemistry and Physics of Lipids*, 121(1–2), 3–19. [https://doi.org/10.1016/S0009-3084\(02\)00143-3](https://doi.org/10.1016/S0009-3084(02)00143-3)

72. Iversen, L. (2003). Cannabis and the brain. *Brain*, 126(6), 1252–1270. <https://doi.org/10.1093/brain/awg143>

73. Harding, E. K., Souza, I. A., Gandini, M. A., Gadotti, V. M., Ali, M. Y., Huang, S. et al. (2023). Differential regulation of Ca<sub>v</sub>3.2 and Ca<sub>v</sub>2.2 calcium channels by CB1 receptors and cannabidiol. *British Journal of Pharmacology*, 180(12), 1616–1633. <https://doi.org/10.1111/bph.16035>

74. Román-Vargas, Y., Porras-Arguello, J. D., Blandón-Naranjo, L., Pérez-Pérez, L. D., Benjumea, D. M. (2023). Evaluation of the analgesic effect of high-cannabidiol-content cannabis extracts in different pain models by using polymeric micelles as vehicles. *Molecules*, 28(11), Article 4299. <https://doi.org/10.3390/molecules28114299>

75. Wu, J.-H., Saseendrakumar, B.R., Moghimi, S., Sidhu, S., Kamalipour, A., Weinreb, R. N. et al. (2023). Epidemiology and factors associated with cannabis use among patients with glaucoma in the All of Us research program. *Heliyon*, 9(5), Article e15811. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2023.e15811>

76. Ried, K., Tamanna, T., Matthews, S., Sali, A. (2023). Medicinal cannabis improves sleep in adults with insomnia: A randomised double-blind placebo-controlled crossover study. *Journal of Sleep Research*, 32(3), Article e13793. <https://doi.org/10.1111/jsr.13793>

77. Nduma, B. N., Mofor, K. A., Tatang, J., Ekhatior, C., Ambe, S., Fonkem, E. (2023). The use of cannabinoids in the treatment of inflammatory bowel disease (IBD): A review of the literature. *Cureus*, 15(3), Article e36148. <https://doi.org/10.7759/cureus.36148>

AUTHOR INFORMATION	СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ
Affiliation	Принадлежность к организации
<p><b>Tatiana N. Capcanari</b>, PhD, Associate Professor, Food and Nutrition Department, Technical University of Moldova 168, Stefan cel Mare bd, Chisinau, Republic of Moldova, MD-2004 Tel.: +3-736-991-77-74 E-mail: tatiana.capcanari@toap.utm.md ORCID: <a href="http://orcid.org/0000-0002-0056-5939">http://orcid.org/0000-0002-0056-5939</a> * corresponding author</p>	<p><b>Капканарь Т. Н.</b> — PhD, доцент, кафедра продовольствия и питания, Технический университет Молдовы Республика Молдова, Кишинев, бульвар Штефан чел Маре, 168, MD-2004. Тел.: +3-736-991-77-74 E-mail: tatiana.capcanari@toap.utm.md ORCID: <a href="http://orcid.org/0000-0002-0056-5939">http://orcid.org/0000-0002-0056-5939</a> * автор для контактов</p>
<p><b>Eugenia F. Covaliov</b>, PhD, Associate Professor, Food and Nutrition Department, Technical University of Moldova 168, Stefan cel Mare bd, Chisinau, Republic of Moldova, MD-2004 Tel.: +3-736-997-52-77 E-mail: eugenia.boaghi@toap.utm.md ORCID: <a href="http://orcid.org/0000-0003-4574-2959">http://orcid.org/0000-0003-4574-2959</a></p>	<p><b>Ковалёв Е. Ф.</b> — PhD, доцент, кафедра продовольствия и питания, Технический университет Молдовы Республика Молдова, Кишинев, бульвар Штефан чел Маре, 168, MD-2004 Тел.: +3-736-997-52-77 E-mail: eugenia.boaghi@toap.utm.md ORCID: <a href="http://orcid.org/0000-0003-4574-2959">http://orcid.org/0000-0003-4574-2959</a></p>
<p><b>Cătălina Iu. Negoita</b>, PhD student, Food and Nutrition Department, Technical University of Moldova 168, Stefan cel Mare bd, Chisinau, Republic of Moldova, MD-2004 Tel.: +3-737-895-00-05 E-mail: catalina.cerchez@toap.utm.md ORCID: <a href="http://orcid.org/0000-0002-8170-029X">http://orcid.org/0000-0002-8170-029X</a></p>	<p><b>Негоица К. Ю.</b> — аспирант кафедры продовольствия и питания, Технический университет Молдовы Республика Молдова, Кишинев, бульвар Штефан чел Маре, 168, MD-2004 Тел.: +3-737-895-00-05 E-mail: catalina.cerchez@toap.utm.md ORCID: <a href="http://orcid.org/0000-0002-8170-029X">http://orcid.org/0000-0002-8170-029X</a></p>
<p><b>Contribution</b></p>	<p><b>Критерии авторства</b></p>
<p>Authors equally relevant to the writing of the manuscript, and equally responsible for plagiarism.</p>	<p>Авторы в равных долях имеют отношение к написанию рукописи и одинаково несут ответственность за плагиат.</p>
<p><b>Conflict of interest</b></p>	<p><b>Конфликт интересов</b></p>
<p>The authors declare no conflict of interest.</p>	<p>Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.</p>

DOI: <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2024-7-1-59-70>



Поступила 24.11.2023

Поступила после рецензирования 21.02.2024

Принята в печать 26.02.2024

© Бурак Л. Ч., Сапач А. Н., 2024

<https://www.fsjour.com/jour>

Обзорная статья

Open access

## ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ТЕХНОЛОГИИ ОМИЧЕСКОГО НАГРЕВА В ПРОЦЕССЕ ПЕРЕРАБОТКИ ПЛОДОВ И ОВОЩЕЙ. ОБЗОР ПРЕДМЕТНОГО ПОЛЯ

Бурак Л. Ч., Сапач А. Н.

Общество с ограниченной ответственностью «БЕЛРОСАКВА», Минск, Республика Беларусь

### КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: АННОТАЦИЯ

*фрукты, овощи, сок, омический нагрев, пастеризация, обработка, инактивация, сушка, выпаривание*

Современный потребитель отдает предпочтение натуральным продуктам с минимальной обработкой, позволяющей максимально сохранять пищевую ценность продукта и свежий вкус и аромат. Цель данной статьи-обзор результатов исследований, касающихся влияния омического нагрева на продукт в сравнении с термической обработкой и рассматривающих комбинированное применение данного метода с нетермическими технологиями при производстве фруктовых и овощных консервов. Материалом данного исследования послужили 105 научных публикаций. Поиск научной литературы на английском и русском языках об использовании технологии омического нагрева в процессе переработки плодовоовощной продукции проводили в библиографических базах Scopus, Web of Science, а также в других источниках. В качестве временных рамок для обзора научных публикаций принят период 2010–2023 гг. Для обзора предметного поля проведенного исследования использовали алгоритм в соответствии с протоколом PRISMA. Научный поиск и обзор научных публикаций по теме исследования показали ограниченное количество работ, посвященных оценке технологии омического нагрева (ОН) в обработке фруктов и овощей. В процессе использования данной технологии применяется электрический ток, обеспечивая равномерное и быстрое выделение тепла внутри пищевой матрицы; ОН имеет более короткое время обработки, что способствует сохранению органолептических показателей качества продукта и его пищевой ценности. По сравнению с термической обработкой, технология ОН не только инактивирует микроорганизмы и пищевые ферменты, но и предотвращает перегрев, что снижает негативное влияние температурного воздействия на химический состав продукта. Выпаривание/концентрирование, обезвоживание/сушка фруктовых соков или пюре с помощью ОН способствовали более высокой энергоэффективности и сокращению времени обработки по сравнению с традиционными способами обработки. Несмотря на многие преимущества, существуют ограничения для масштабного промышленного применения метода ОН, включая коррозию электродов, что может оказывать негативное влияние на продукт, а также неравномерный нагрев некоторых видов плодовоовощного сырья в непрерывном режиме процесса обработки. Результаты данного обзора могут быть использованы в процессе проведения дальнейших научных исследований, которые целесообразно продолжать с целью определения конкретных параметров обработки и устранения неравномерности нагрева пищевого сырья.

Received 24.11.2023

Accepted in revised 21.02.2024

Accepted for publication 26.02.2024

© Burak L. Ch., Sapach A. N., 2024

Available online at <https://www.fsjour.com/jour>

Review article

Open access

## USE OF OMIC HEATING TECHNOLOGY IN THE PROCESS OF PROCESSING FRUITS AND VEGETABLES. OVERVIEW OF THE SUBJECT FIELD

Leonid Ch. Burak, Alexander N. Sapach

BELROSAKVA Limited Liability Company, Minsk, Republic of Belarus

### KEY WORDS:

*fruits, vegetables, juice, ohmic heating, pasteurization, processing, inactivation, drying, evaporation*

### ABSTRACT

The modern consumer prefers natural products with minimal processing, which allows maximum preservation of the nutritional value of the product and fresh taste and aroma. The purpose of this article is to review the results of studies concerning the effect of ohmic heating on the product in comparison with heat treatment and considering the combined use of this method with non-thermal technologies in the production of canned fruit and vegetables. The material for this study was 105 scientific publications. A search for scientific literature in English and Russian on the use of the ohmic heating technology in the process of processing fruits and vegetables was carried out in the bibliographic databases Scopus, Web of Science, as well as in other sources. The period 2010–2023 was adopted as the time frame for the review of scientific publications. To review the subject field of the study, an algorithm was used in accordance with the PRISMA protocol. A scientific search and review of scientific publications on the research topic showed a limited number of studies assessing the ohmic heating (OH) technology in the processing of fruits and vegetables. In the process of using this technology, electric current is applied, ensuring uniform and rapid release of heat inside the food matrix. OH has a shorter processing time, which helps preserve the organoleptic quality of the product and its nutritional value. Compared to heat treatment, the OH technology not only inactivates microorganisms and food enzymes, but also prevents overheating, which reduces the negative impact of temperature on the chemical composition of the product. Evaporation/concentration, dehydration/drying of fruit juices or purees using OH resulted in higher energy efficiency and reduced processing time compared to traditional processing methods. Despite many advantages, there are limitations to large-scale industrial application of the OH method, including corrosion of the electrodes, which can have a negative impact on the product, as well as uneven heating of some types of fruit and vegetable raw materials during continuous processing. The results of this review can be used in the process of conducting further scientific research, which is advisable to continue in order to determine specific processing parameters and eliminate uneven heating of food raw materials.

ДЛЯ ЦИТИРОВАНИЯ: Бурак, Л. Ч., Сапач, А. Н. (2024). Использование технологии омического нагрева в процессе переработки плодов и овощей. Обзор предметного поля. *Пищевые системы*, 7(1), 59-70. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2024-7-1-59-70>

FOR CITATION: Burak, L. Ch., Sapach, A. N. (2023). Use of omic heating technology in the process of processing fruits and vegetables. Overview of the subject field. *Food Systems*, 7(1), 59-70. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2024-7-1-59-70>

## 1. Введение

Информация об использовании натуральных продуктов, отсутствии в них химических консервантов и о применении современных технологий переработки, позволяющих максимально сохранять пищевую ценность продукта, свежесть вкуса и аромата, привлекает потребителей и определяет их покупательскую способность. Технологии обработки омическим нагревом (ОН) продуктов переработки фруктов и овощей улучшают качество конечного продукта, поскольку потребители отдают предпочтение более натуральным продуктам, содержащим минимальное количество синтетических консервантов. Омические методы можно использовать для нагрева пищевых продуктов с проводимостью от 0,1 до 10 См/м. Омическая технология применяется периодически или непрерывно. Напряженность электрического поля, конфигурация электродов и проводимость нагреваемого материала генерируют потоки тока, которые обуславливают высокую плотность мощности и быстрое выделение тепловой энергии. Параметры, применяемые при ОН: напряжение — от 400 до 4000 В; мощность поля — от 20 до 400 В/см; зазор между электродами — от 10 до 50 см. Скорость нагрева определяется эффективностью источника энергии, конструкцией оборудования и характером тепловой среды, например, проводимостью, вязкостью и теплоемкостью [1,2]. ОН — это метод быстрого и равномерного нагрева, требующий меньше энергии по сравнению с традиционной термической обработкой [3,4]. Нетермическое воздействие ОН, то есть электропорация и электрический пробой, изменяло клетки и ткани в зависимости от характеристик пищевого материала и условий процесса, таких как температура, приложенная частота и градиент напряжения. Согласно данным Gavanian и др. [4], низкая частота и повышенная напряженность электрического поля усиливают образование пор и электрический пробой клеток. Кроме того, свежее плодовоовощное сырье более чувствительно к нетепловому воздействию ОН, чем материалы, которые до ОН подвергались другим процессам, таким как сушка [4]. Хотя метод омического нагрева имеет ряд преимуществ перед традиционной обработкой, там, где необходимы высокие температуры для стерилизации, данный метод неэффективен. За последние несколько десятилетий проведен ряд исследований ОН различных пищевых материалов [5]. Технология ОН была изучена в широком диапазоне продуктов питания, включая фрукты и овощи [6], молоко и молочные продукты [7], крупы и хлебобулочные изделия [8,9], мясо и морепродукты [10,11] и так далее. Использование ОН предполагает не только пастеризацию и стерилизацию [5,12], выпаривание или концентрирование [13,14], обезвоживание [15,16,17], приготовление пищи [18,19,20], бланширование [21], запекание [22,23], но и извлечение [4,24,25,26], размораживание [27], шелушение [28,29] и размягчение тканей [8,30]. Перечисленные исследования были направлены на изучение происходящих процессов при нагревании, изменений электропроводности, моделирования и/или имитации, инактивации ферментов и микробов, изменений реологии, цвета и пищевых компонентов [31]. Цель данной статьи — обзор результатов исследований, касающихся влияния омического нагрева на продукт в сравнении с термической обработкой и рассматривающих комбинированное применение данного метода с нетермическими технологиями при производстве фруктовых и овощных консервов.

## 2. Материалы и методы

Поиск научной литературы на английском и русском языках об использовании технологии омического нагрева в процессе переработки плодовоовощной продукции проводили в библиографических базах Scopus и Web of Science. Для отбора научных статей на русском языке провели поиск, по ключевым словам, в Google Scholar и в Научной электронной библиотеке (eLIBRARY.RU).

В качестве временных рамок для обзора научных публикаций принят период 2010–2023 гг. При выполнении работы использованы научные методы — поиск и скрининг научной литературы, извлечение и анализ данных, систематизация и обобщения. При отборе публикаций для обзора приоритет отдавали высоко цитируемым источникам. Для обзора предметного поля проведенного исследования применяли алгоритм в соответствии с протоколом PRISMA и составляли схему проведения исследования.

Для поисковых запросов в зарубежных базах данных Scopus, Web of Science были использованы следующие ключевые слова и словосочетания на английском языке: ohmic heating, vegetables, fruits, pasteurization, processing, inactivation, drying, evaporation. На русском языке в базе данных Google Scholar и Научной электронной библиотеке (eLIBRARY.RU) вводились следующие ключевые слова: омический нагрев, овощи, фрукты, пастеризация, обработка, инактивация, сушка, выпаривание.

Критерии включения для статей, подлежащих анализу:

1. Статья написана в период 2010–2023 гг;
2. Статья соответствует теме исследования;
3. Типы анализируемых статей — оригинальные исследовательские статьи, обзорные статьи, краткие отчеты.

Критерии исключения для статей, подлежащих анализу:

1. Статья не соответствует теме данного обзора: не касается тематики использования технологии омического нагрева при обработке продуктов переработки плодов и овощей;
2. Статья написана не на английском языке, статья на русском языке не входит в РИНЦ;
3. Содержание статьи дублируется. Если из разных баз данных или разных электронных библиотечных систем были извлечены повторяющиеся источники, их классифицировали только один раз.

Результаты анализа были представлены в виде таблиц и диаграмм для визуализации данных. Для обзора предметного поля проведенного исследования использовали алгоритм в соответствии с протоколом PRISMA и составили схему проведения исследования (Рисунок 1).

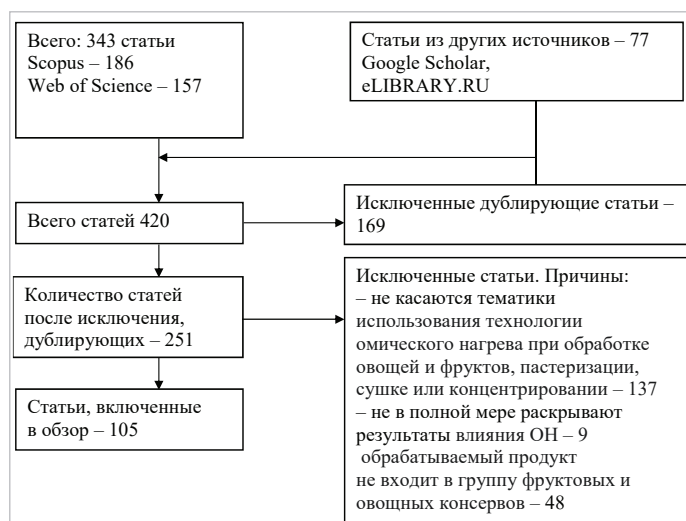


Рисунок 1. Блок-схема, описывающая процесс выбора исследования, в соответствии с протоколом PRISMA

Figure 1. Flow chart describing the process of choosing a study according to the PRISMA protocol

Примечание: PRISMA Extension for Scoping Reviews (PRISMA-ScR): Checklist and Explanation, 2018 (<https://www.acpjournals.org/doi/10.7326/M18-0850>). In the public domain.

## 3. Результаты и обсуждение

### 3.1. Принцип действия технологии омического нагрева (ОН)

Омический нагрев (ОН) — метод относительно новый, используемый для пастеризации и стерилизации пищевых продуктов в качестве альтернативы традиционной термической обработке. ОН выделяет внутреннее тепло, сопротивляясь потоку переменного электрического тока. В технологии ОН используются высокотемпературные кратковременные процессы для равномерного и быстрого нагревания жидких и твердых продуктов [32]. Основные компоненты оборудования ОН включают источник питания, нагревательную камеру, электроды, термодатчик, датчик тока и систему сбора данных. Во время обработки ОН пищевое сырье действует как резистор и повышает свою температуру за счет эффекта Джоуля [33]. Повышение температуры влияет на структуру пищи и вызывает перенос влаги, клейстеризацию крахмала и денатурацию белка [8]. Принцип ОН основан на распределении электрической энергии в виде тепла через электрический проводник, когда электрическая энергия, поступающая в продукт, преобразуется в тепловую энергию, а электрическое сопротивление пищи вызывает объемный нагрев [34]. Нагрев с эффектом Джоуля имеет эффективность более 90% по сравнению с обычной теплопередачей (т. е. за счет температурных градиентов или горячих поверхностей от окружающей среды к среде) [35]. Кроме того, быстрый и равномерный нагрев, вызванный флуктуациями электрических полей, увеличивает динамическое движение заряженных частиц и дипольные моменты растворов [34]. Электроды ОН непосредственно воздействуют на нагреваемую среду, что является основным отличием ОН от других методов нагрева [35]. Оптимизировать систему омического нагрева весьма сложно по причине теплофизических воздействий в процессе теплопереноса.

Авторы Hashemi и Roohi [36] внедрили метод вычислительной гидродинамики, предоставив исследователям ценные данные, в том числе контроль непроектных тепловых пятен, потерю тепла и эффективности оборудования с помощью численных расчетов. Также было установлено, что ОН способствует экономии электрической энергии [37]. Разработка эффективных тепловых систем для высокотемпературных применений является перспективным направлением для промышленного использования в различных отраслях промышленности. В промышленности технология ОН может продемонстрировать эффективность более 90%, однако для достижения этого уровня необходимо обеспечить снижение тепловых потерь с помощью изоляции стен [38].

### 3.2. Использование технологии омического нагрева при переработке овощей и фруктов

Технология ОН способствует процессу пастеризации с максимальным сохранением пищевой ценности продукта, с защитой ценных компонентов, таких как каротиноиды и ксантофиллы во фруктовых соках [12]. Проведены исследования и установлено влияние ОН на инактивацию *Salmonella spp.* [39], *Lactobacillus spp.* [40] и *Staphylococcus spp.* [41]. В последнее время многие авторы изучили влияние пастеризации технологией ОН при переработке купажированных цитрусовых соков [36], морковных соков [42], виноградных соков [43], яблочного сока [44], сока шелковицы [45]. При анализе стабильности фенольных соединений во время пастеризации ОН (20,5 В/см) было установлено, что большему разрушению фенолов и флавоноидных соединений способствовало не изменение напряжения и частоты электрического поля, а трансформация формы волны (прямоугольная или импульсная) [46]. По данным Darvishi и др [47], биологически активные вещества (особенно витамин С и общее содержание фенолов) цитрусовых соков (например, апельсинового сока) сохранились за счет сокращения времени обработки и увеличения градиента напряжения. Точно так же применение технологии ОН при разных частотах электрического поля (10–1000 Гц) и напряжения (25–80 В) способствовало сохранению качества малиновых напитков на основе сыворотки. Согласно результатам данного исследования, для жидких продуктов необходимо обеспечивать равномерное распределение тепла внутри матрицы [48]. Следует отметить исследование, в ходе которого проводили пастеризацию купажированных фруктово-овощных соков методом термической обработки и омического нагрева. Были приготовлены соки из овощей, произрастающих в Республике Беларусь, таких как тыква, морковь и сельдерей. Овощные соки купажировали с соками апельсина, грейпфрута и плодов бузины. С целью увеличения срока хранения купажированных соков они были подвергнуты омической пастеризации. Согласно полученным данным, было установлено, что термическое воздействие омического метода оказывает меньший вред для флавоноидов по сравнению с общепринятым методом пастеризации. Оптимальными параметрами омической пастеризации были определены напряжение 18 В и температура 70 °С. Дальнейшее увеличение напряжения вело к изменению цвета и консистенции соковой продукции, что отрицательно влияло на внешний вид и органолептические показатели [2].

Хотя система ОН изначально была разработана для жидких пищевых продуктов, она эффективно применялась для пюре из манго с целью улучшения качественных показателей, таких как содержание растворимых сухих веществ (СВ) и кислотность продукта [49]. Метод обработки ОН не требует присутствия пара или горячей воды, а также перемешивания для достижения однородности при обработке сока. Во время концентрирования сока тепловые технологии потребляют много энергии, в то время как ОН является одной из перспективных энергоэффективных систем [50]. Согласно данным литературных источников, был исследован ряд фруктовых соков после процесса концентрирования или выпаривания методом ОН, например, апельсиновый сок [51,52], гранатовый сок [14], виноградные соки [53], вишневые соки [54,55], соки из киви [56] и вержус [57]. Авторы Fadavi и др. [54] концентрировали вишневый сок до содержания сухих веществ на уровне 33% и 46,7% от исходной массы с использованием ОН (при 10–30 В/см; при атмосферном давлении и вакууме 30 и 60 кПа). Результаты показали снижение скорости нагрева на 11,3% при снижении давления на 60% и снижение скорости нагрева на 30,7% при изменении концентрации на 46,7%. Авторы подтвердили, что при понижении давления (вакуумное состояние) электропроводность уменьшалась, а концентрация увеличивалась.

В настоящее время проведены исследования по изучению действия ОН на процесс инактивации ферментов во фруктовых и овощных соках, включая соки манго [58], томатный сок [59], соки сахарного

тростника [60–61] и арбузный сок [31]. Согласно исследованиям, проведенным Morales-Sánchez с соавторами [62], инактивация пектинметилэстеразы (ПМЭ) в результате ОН (17–23 В/см при 30–72 °С) зависит не только от приложенного электрического поля, но и от исходной проводимости образца. Ученые Jakob и др. [63] также сообщили об увеличении инактивации ПМЭ при высокой начальной электропроводности, в то время как значения электрического поля были постоянными. По мнению авторов, для обработки ОН фруктовых соков, обладающих высокой электропроводностью, достаточно короткого времени (секунды). Ранее группа исследователей [64] установила снижение активности полифенолоксидазы (ПФО) под действием ОН (20–40 В/см, 20–90 °С) в процессе переработки виноградного сока.

Обобщенные данные исследований о применении ОН в процессе переработки фруктов и овощей представлена в Таблицах 1 и 2.

### 3.3. Сравнение технологии ОН и традиционных методов нагрева

#### 3.3.1. Микробная / ферментативная инактивация

Получены результаты, указывающие на более заметную эффективность омического нагрева в инактивации *Escherichia coli*, дрожжей, лактобацилл и сальмонеллы по сравнению с традиционным методом пастеризации [16,36,39,71]. Кроме того, авторы Cho et al. [71] использовали непрерывную пастеризацию ОН собственной разработки для продукта Gochujang (ферментированный национальный корейский продукт) с пастой из острого перца. Система обеспечивала быстрый и равномерный нагрев (> 100 °С) без образования накипи, инактивацию микроорганизмов (2-логарифмическое сокращение), сокращение времени обработки по сравнению с традиционной системой нагрева периодического действия. Khue et al. [39] в своем исследовании установили более быструю инактивацию микробов при обработке фруктовых соков помело ОН по сравнению с обычной пастеризацией. По данным Hashemi and Roohi [36], скорость инактивации микроорганизмов увеличивалась при повышении напряжения от 150 до 250 В при обработке цитрусовых соков. Схожие результаты были получены автором Kumar в процессе обработки виноградного сока методом ОН: по мере увеличения градиента напряжения снижалось время, необходимое для инактивации, количество микробов было ниже рекомендуемого предела до 21 дня хранения в обработанном виноградном соке ОН (30 В / см, 85 °С, 5 мин) [43]. Priyadarshini и соавторы [72] наблюдали значительную инактивацию бактерий и дрожжей/плесени во время пастеризации мякоти манго ОН (10–20 В/см при 60–80 °С) по сравнению с обычным нагреванием при 90 °С в течение 10 мин. Пастеризация ОН (12,5 В/см, 60 °С в течение 5 минут) обеспечила максимальное снижение микробиологической обсемененности в яблочном соке. Однако с увеличением времени обработки и температуры происходили значительные изменения содержания аскорбиновой кислоты и трансформации цвета [44]. Ученые Sarkis и другие [73] продемонстрировали кинетику деградации антоцианов при 23–125 В и при обычном нагревании (70–90 °С) в мякоти ежевики. Обе технологии нагревания, ОН при низком напряжении (23 В) и обычный нагрев, показали одинаковую скорость деградации антоцианов. Авторы сообщили о значительном разрушении антоцианов при высоком напряжении из-за электрохимических реакций. Однако увеличение градиента напряжения положительно влияло на сохранение антиоксидантной активности [73]. Darvishi и соавторы [74] в своем исследовании установили самую высокую антиоксидантную активность в образцах концентрата черного винограда (патоки), обработанных ОН, по сравнению с образцами, подвергнутыми обычному нагреву. Применение технологии омического нагрева приводит к снижению себестоимости на 2,4 доллара, а также к уменьшению времени обработки в 7,2 раза и энергопотребления в 6,3 раза без изменения органолептических свойств по сравнению с обычным процессом нагревания. Следовательно, эффективность ОН зависит от параметров обработки, таких как градиент напряжения, частота и температура, а также от характеристик самого продукта.

Авторы Kanjanapongkul и Waibua использовали ОН для предотвращения обесцвечивания розового цвета, связанного с ингибированием ПФО и ПОД в кокосовой воде [85]. Хотя более высокая напряженность электрического поля быстрее снижала активность ферментов, обработка ОН (70–80 °С) непрерывно уменьшала активность ПФО в течение длительного времени. Так, ОН при 90 °С за 3 мин снижал на 10% исходную активность ПФО, которая оставалась неизменной в условиях хранения. Напротив, ОН при 70 °С сначала повышал активность ПОД, затем снижал при 80 °С с выдержкой до полной инактивации при 90 °С. После обработки кокосовая вода приобрела светло-розовый цвет на 14-й день. Вместе с тем результаты показали большую активацию фермента при увеличении напряженности электрического поля, при этом электрическая частота не оказывала

Таблица 1. Результаты использования ОН для фруктовых и овощных соков  
Table 1. Results of using OH for fruit and vegetable juices

Продукт	Процесс	Комбинирование/сравнение с другими методами	Условия проведения эксперимента	Выводы	Источник
Гранатовый ( <i>Punica granatum</i> cv. <i>Hicaz</i> ) сок	Концентрирование (до 40% сухих веществ)	В сочетании с выпариванием под вакуумом	7,5–12,5 В/см	Время ОН сокращается на 56% по сравнению с обычным нагревом	[14]
Вишневый сок	Концентрирование	В сочетании с выпариванием под вакуумом	10–14 В/см	Увеличение производительности процесса выпаривания и снижение энергоемкости	[52]
Вишневый сок	Концентрирование (до 40% потери воды)	По сравнению с обычным нагревом	8,3–13,9 В/см, 50 Гц	Скорость нагрева ОН в 10 раз выше по сравнению с обычным нагревом	[54]
Апельсиновый сок	Концентрирование	В сочетании с выпариванием под вакуумом (27 кПа), по сравнению с ОН при атмосферном давлении	15–30 В/см, 66 °С	ОН значительно замедляет процесс разрушения пектина и витамина С, а также позволяет получить сок более высокой концентрации	[51]
Апельсиновый сок	Концентрирование (до 40% сухих веществ)	В сочетании с выпариванием под вакуумом (25–101 кПа)	13 В/см, 65–100 °С, 34–54 мин	При повышении температуры время обработки уменьшилось по мере выпаривания	[55]
Сок киви	Концентрирование	В сочетании с выпариванием в вакууме, по сравнению с ОН при атмосферном давлении	—	ОН в сочетании с выпариванием под вакуумом лучше сохраняет антиоксидантную активность и витамин С в концентрированном соке. Однако при этом увеличивается время обработки, ускоряется коррозия электродов, снижается эффективность процесса и проводимость среды	[56]
Арбузный сок	Инактивация полифенолоксидазы	По сравнению с обработкой горячей водой (90 °С в течение 15–60 с)	24 В/см, 50 Гц	Активность полифенолоксидазы снизилась на 36,15% и 8,87% за 60 с при использовании горячей воды и ОН соответственно. Изменение цвета было меньше в образцах, обработанных ОН	[59]
Напитки на основе арбузного сока	Физико-химические показатели, содержание биоактивных соединений и срок годности	По сравнению с обычным нагревом	80 °С, 3 мин	При ОН снижение микробиологической обсемененности эффективнее, чем при обычном нагреве	[65]
Сок сахарного тростника	Инактивация пероксидазы	По сравнению с обычным нагревом	7,8 В/см, 60 Гц, 25 мин, 75 °С	Инактивация пероксидазы при ОН 78% в жидком состоянии и 100% в твердом состоянии, что более эффективно, чем при обычном нагреве	[60]
Сок сахарного тростника	Оценка влияния способа обработки	По сравнению с ультразвуком (20 кГц) и обычным нагревом	7,8 В/см, 60 Гц, 80 °С	ОН способствовал сохранению цвета и содержания фенольных соединений	[66]
Сок плодов помело	Инактивация <i>Salmonella enterica serovars enteritidis</i>	По сравнению с обычным нагревом	30 В/см, 50–20000 Гц	Разрушение бактерий происходит быстрее при ОН, чем при обычном нагреве	[67]
Томатный сок	Инактивация ферментов (полигалактуроназа и пектинметилэстераза)	По сравнению с обычным нагревом (90 °С, 5 мин)	90 °С, 1 мин	Инактивация ферментов происходит быстрее при ОН, что способствует сохранению цвета и консистенции	[59]
Купажированный цитрусовый сок (сладкий лимон и апельсин)	Пастеризация	По сравнению с обычным нагревом (75 °С, 30 мин)	150–250 В, 99,4 °С, 120 с	При увеличении напряжения скорость инактивации патогенных бактерий увеличивается	[36]
Сок черной шелковицы	Кинетика обработки, качество термодинамическая оценка процесса концентрирования	По сравнению с обычным нагревом	15–30 В/см	Содержание фенола в концентрированном образце в 3,0–4,5 раза выше при ОН, чем при обычном нагреве, потребление энергии в 4,6–5,3 раза ниже	[68]
Сок из плодов помело	Инактивация пектинметилэстеразы и лактобацилл	По сравнению с обычным нагревом (20–80 °С)	20–40 В/см, 50–20000 Гц	Инактивация происходит быстрее при ОН, чем при обычном нагреве	[69]
Сок из плодов помело	Влияние частоты переменного тока и напряженности электрического поля на изменения биоактивных соединений	По сравнению с обычным нагревом (20–80 °С)	20–40 В/см, 50–20000 Гц	ОН при 60 Гц и 30 В/см эффективнее совместно с пастеризацией	[69]
Морковный сок	Пастеризация	По сравнению с обычным нагревом (80 °С, 7 мин)	120 В/см, 60 кГц, 15–80 °С	При ОН увеличилась антиоксидантная способность и микробиологическая стабильность в процессе хранения в течение 60 дней при 4 °С	[42]
Морковный сок	Подбор оптимальных параметров обработки	По сравнению с обычным нагревом (80 °С в течение 60 с)	15–25 В/см, 40–90 с	После обработки ОН (17 В/см при 40 с) сок был пригоден для потребления в течение 10 дней, органолептические и микробиологические показатели были более естественные, чем при обычной обработке	[70]
Виноградный сок	Пастеризация	—	10–40 В/см, 55–85 °С, 1–5 мин	Микробиологическая стабильность после обработки при 30 В/см, 85 °С, 5 мин сохранялась в течение 21 дня	[43]
Виноградный сок	Концентрирование	—	16–24 В/см	При ОН выпаривание происходит эффективнее на 80%	[55]
Яблочный сок	Пастеризация	—	10–15 В/см, 50–60 °С, 1–5 мин	Наиболее значительное уменьшение количества микроорганизмов наблюдалось при 12,5 В/см, 60 °С и 5 мин	[44]
Яблочный сок	Инактивация <i>Staphylococcus aureus</i>	По сравнению с обычным нагревом (72 °С)	10 В/см, 50 Гц, 2 мин	При ОН гибель <i>Staphylococcus aureus</i> происходит за более короткое время по сравнению с обычным нагревом	[41]



Таблица 2. Обзор результатов использования ОН в производстве продуктов из фруктов и овощей  
Table 2. Overview of the results of using OH in production of products from fruits and vegetables

Продукт	Процесс	Комбинация/сравнение с другими методами	Условия проведения эксперимента	Выводы	Источник
Ягоды винограда	Экстракция полифенолов	По сравнению с обычным нагревом (72 °С, 90 с)	55 В/см, 60–90 с, 72 °С.	При ОН снижается время мацерации, сохранение полифенолов на 17% выше, чем при обычном нагреве	[75]
Кизил	Экстракция полифенолов ОН с микроволнами	По сравнению с микроволнами и мацерацией	20–40 В/см, 1–20 мин + микроволны (10, 60 и 120 мин)	При ОН увеличился выход полифенолов в 1,1–5,4 [раза] чем при микроволнах и мацерации (вар.ред.: по сравнению с воздействием микроволн и мацерации)	[76]
Кизил	Экстракция полифенолов ОН с ультразвуком	По сравнению с ультразвуком и мацерацией	20–40 В/см, 1–20 мин. + ультразвук (1–80 мин)	При ОН уменьшилось время экстракции на 34%	[76]
Кусочки ананаса	Сравнение физических, микроструктурных, антиоксидантных и ферментных характеристик	По сравнению с обработкой под высоким давлением (600 МПа, 3 мин) и обычным нагревом (90 °С, 5 мин)	Увеличение температуры до 90 °С	Обработка ОН свидетельствовала об электропорации клеточных стенок, а также о последовательном ухудшении равномерности распределения (ввиду большого количества мелких кусочков)	[77]
Кусочки персика	Влияние на качественные характеристики	По сравнению с обработкой под высоким давлением (600 МПа, 3 мин) и обычным нагревом (98 °С, 100 с)	98 °С, 110 с	При ОН меньшее количество инвазий, чем при обычном нагреве. При ОН увеличилось общее содержание полифенолов	[77]
Грейпфрут, лимон и апельсин	Производство пектина из цитрусовых отходов	—	9 В/см, 80 °С	Общее потребление энергии увеличивается по мере увеличения времени обработки, средняя мощность уменьшается	[78]
Томат	Очистка	По сравнению с обычным нагревом (100 °С)	1500–4500 В/м + солевой раствор (0,1–0,3%)	Быстрый рост температуры томата, а также электропорация ускорила процесс очистки. При ОН сохранность витамина С на 4,1% выше	[79]
Томатная паста	Сохранение биоактивных соединений	В сочетании с вакуумом (0,03 МПа), по сравнению с обычным нагревом (87–90 °С)	3,64 В/см, 87,30 °С	ОН-продукт имеет большую степень разрушения сахаров, а также карамельный запах, связанный с фурфуролом и 5-метилфурфуролом. ОН снижает время обработки	[79]
Пюре ежевики	Кинетика разложения антоцианов	По сравнению с обычным нагревом (70–90 С, 90 мин)	23–125 В, 60 Гц, 70–90 °С, 90 мин	Потеря антоцианов при ОН на 3% выше, чем при обычном нагреве	[73]
Пюре манго	Инактивация полифенолоксидазы	По сравнению с обычным нагревом (72 °С, 2 мин)	15–20 В/см, 60 Гц, 72 °С, 2 мин	При ОН увеличилась кажущаяся вязкость на 10,26–15,64% и содержание растворимых волокон. Инактивация на 95,7% достигнута через 15 с в обоих случаях	[58]
Пюре манго	Инактивация микроорганизмов	По сравнению с обычным нагревом (90 °С в течение 10 мин).	10–20 В/см, 60–80 °С	Бактериальная нагрузка снизилась с 80 КОЕ/мл до 7 КОЕ/мл для дрожжей/ плесеней	[80]
Морковь и яблоко, пюре	Оптимизация	По сравнению с импульсным электрическим полем (4 кВ, 0,5 кДж/кг, 0,5 мс)	572 В, 12 кГц, 114 В/см, 40–80 °С	Инактивация ОН полифенолоксидазы и пероксидазы было больше (около 90%) при 80 °С	[81]
Яблочное пюре	Влияние на качество и пищевую ценность	По сравнению с импульсным электрическим полем (600 МПа, 3 мин) и обычным нагревом (107 °С в течение 35 с)	107 °С (образец, подогретый от 25 до 60 °С).	При ОН установлено более высокое сохранение качественных характеристик яблочного пюре по сравнению с обычным нагревом	[82]
Выжимка из томата	Получение биоактивных соединений	В сочетании с умеренным электрическим полем (4–11 В/см)	Растворитель с обработкой ОН-экстракцией (70 °С, 60–280 В, 15 мин, 25 кГц с использованием 70% этанола)	Извлечение ликопина выше на 4,93 мкг/г выжимок, на 58% выше скорость извлечения. Извлечение полифенолов и каротиноидов увеличилось при использовании ОН 6 и 11 В/см	[83]
Отходы лимона	Производство пектина	—	70–90 °С для 0–30 мин	Условия экстракции влияют на выход пектина	[84]

Примечание: НРР — обработка под высоким давлением; ОН — омический нагрев; РЕФ — импульсное электрическое поле; ПФО — полифенолоксидаза; ПОД — пероксидаза; ТРС — общее содержание полифенолов.

существенного влияния на активность фермента. Также степень сохранения витамина С после ОН была значительно ниже ( $10,6 \pm 1,4\%$ ), чем при обычном нагревании ( $14,7\%$ ). В другом исследовании ОН снижал активность ПФО сока сахарного тростника (остаточная активность  $10,07\%$  при  $32 \text{ В/см}$  и  $80 \text{ °С}$ ) за более короткое время обработки (1 мин) со сроком хранения 10–30 дней при комнатной температуре и температуре охлаждения соответственно, по сравнению с обычной термической обработкой, которая снижала активность ПФО (остаточная активность  $6,47\%$ ) за 10 мин при  $80 \text{ °С}$  [61].

### 3.3.2. Концентрация / сушка

Для концентрирования фруктовых соков используется несколько традиционных методов, однако эти методы приводят к низкому качеству стабилизированных пищевых продуктов, таких как жидкости или соки с высокой вязкостью, содержащие крупные частицы.

По этой причине ОН был тщательно изучен для применения в целях испарения, концентрирования, сушки или дегидратации. Имеются недавние исследования по комбинированному использованию различных нетермических и термических технологий с обработкой ОН для пастеризации, а также с целью сохранения биоактивных соединений [86] при выпаривании или концентрировании [52,55,56,57]. Например, общее содержание фенолов в соке сахарного тростника, обработанного ОН и ультразвуком, было такое же, как и в свежем соке без дополнительной нетермической обработки. Однако при визуальном восприятии образцов в обоих вариантах обработки установлено незначительное отличие в цвете. С учетом этих двух параметров качества, согласно данным Rodrigues и соавторов [66], ультразвук и ОН оказались эффективной заменой пастеризации. Кроме того, общее содержание фенолов в концентрате сока черной шелковицы, обработанном ОН, было в 3–4,5 раза выше, потребление

ние энергии было ниже в 4,6–5,3 раза, а эффективность концентрирования — на 38–46% выше, чем при традиционном нагреве [68]. Nougouzi с соавторами [54] установили, что методы ОН (8,3–13,9 В/см) увеличивают скорость нагрева в 10 раз и сокращают на 13–45% необходимое время концентрирования вишневого сока по сравнению с обычным нагревом (горячая плита). Авторы пришли к выводу, что более высокие напряжения пропускают больший ток через образец и увеличивают скорость испарения воды, тем самым сокращая время обработки. Кроме того, изменение цвета было более заметным в обычно нагретом вишневом соке, чем при ОН. Также авторы Sokgezme и Icier [87] использовали специально разработанное омическое оттаивание (10–20 В/см) для замороженных концентратов вишневого сока (15–50% СВ) с целью сокращения времени (до 90%) по сравнению с обычным оттаиванием (4 °С). При омическом оттаивании небольшая часть замороженных образцов поднималась на поверхность из-за относительно меньшей плотности, что создавало температурную неоднородность на поверхности ввиду относительно быстрого повышения температуры в оттаивающих областях.

В некоторых научных публикациях демонстрируется влияние технологии ОН, используемой для сушки фруктов и овощей, в сравнении с обычной сушкой. Так, Cao с соавторами [88] установили, что сушка плодов личи с помощью технологии прерывистого ОН (при 70 °С; 20 мин и 5–15 мин сушки) уменьшает эффект потемнения и обеспечивает лучшее качество продукта с точки зрения запаха и вкуса, а также требует меньше энергии по сравнению с обычной сушкой [88]. Точно так же Roojitha и Athmaselvi [89] заметили, что скорость сушки была значительно выше при омическом бланшировании чеснока (26,66 В/см за 30 с) по сравнению с обычным бланшированием. Кроме того, омическое бланширование вызывало меньшую интенсивность потемнения и позволило сохранить до 945,8 мг/кг диаллилсульфида в чесночном порошке.

#### 3.4. Предварительная обработка и комбинирование ОН с нетермическими технологиями

В процессе обработки фруктов и овощей частичная или осмотическая дегидратация используются для удаления части воды, для ингибирования ферментативного потемнения и с целью сохранения первоначальных органолептических показателей качества [90]. Предварительная обработка ОН способствует эффективному процессу обезвоживания, обеспечивая при этом сохранение биологически активных соединений, поэтому данный способ является пригодным для промышленного внедрения. Синергетическое воздействие ОН и вакуума считается лучшим методом обработки для улучшения микроструктуры яблок при производстве яблочных закусок, богатых фолиевой кислотой, а также осмотически обезвоживает клубнику и чернику [91,92,93,94]. Обработка ОН сокращала время сушки до 50% для осмодегидрированных яблок по сравнению с обычными обработками [91]. Точно так же автор Kutlu [90] использовал ОН в сочетании с осмотической дегидратацией (20–40 В/см в течение 10–30 мин) для айвы. Установлено более высокое общее содержание фенолов, выявлен коэффициент регидратации и найдены различия в цвете и диэлектрических свойствах (при 40 В/см в течение 30 минут) при концентрации сахарозы 16,67% и микроволнах (270 Вт после обезвоживания) по сравнению с контрольными образцами.

Технология ОН наряду с электропорацией, термическим и вакуумным воздействием вызвала осмотические изменения в тканевых порах и поддерживала содержание воды и вторичных метаболитов растений. Их воздействие на ПФО было значительным при 50 °С, что увеличило срок хранения обработанных яблок до 4 недель. Синергетический эффект ОН и импульсного вакуума (импульсная вакуумная осмотическая дегидратация/обработка ОН) повысил эффективность процессов дегидратации и сохранил биологически активные соединения черники, особенно полифенолы [95]. Импульсное электрическое поле (ИЭП) и предварительная обработка ОН образцов обработанного сока (при 80 °С) показали более низкие значения изменения цвета и повышенную антиоксидантную активность по сравнению с необработанными образцами. Как в морковном, так и в яблочном пюре была достигнута 90% инактивация ПОД и ПФО при 80 °С (температура предварительного нагрева) [81].

Ученый Kumar и его соавторы [96] исследовали воздействие ОН (нагрев до 90 °С при 25–35 В/см в течение 60–180 с) в качестве этапа предварительной обработки перед сушкой кубиков свежевырезанного ананаса (*Anana comosus*). Обработка ОН в течение 90 и 120 с привела к максимальному изменению текстуры. Авторы продемонстрировали влияние напряженности электрического поля на разрушение текстуры, что выразилось в появлении небольших трещин на поверхности кожицы фрукта. Кроме того, электрическое поле вызвало эффект

электропорации и электропермеабилитации и увеличило скорость массопереноса, что привело к ускорению процесса обработки и, следовательно, к сокращению времени сушки. По мнению авторов, обработка ОН может использоваться в качестве альтернативы традиционному бланшированию фруктов и овощей перед сушкой и хранением. В другом исследовании Rinaldi и другие [77] наблюдали сильную электропорацию клеточной стенки кубиков персика и ананаса, предварительно обработанных ОН (в сахарном сиропе). По мнению авторов, комбинированная обработка ОН и высоким давлением (ВД) позволила добиться наилучшего сохранения размерных характеристик, твердости и цвета кубиков, консистенции сиропа. Однако для образцов, обработанных ОН и традиционным нагревом, наблюдалось значительное снижение содержания аскорбиновой кислоты и одновременное увеличение общего содержания фенолов. Авторы [77] предположили, что образцы, обработанные ВД, имеют менее поврежденную форму и микроструктуру за счет сиропа, содержащего растворимые сухие вещества. С другой стороны, ананас, обработанный обычным нагреванием, показал самую низкую остаточную активность ПФО, однако антиоксидантная способность была сопоставима с образцами обработанных кубиков ананаса.

Вакуумное выпаривание применяется в производстве фруктовых соков для концентрирования, но оно имеет некоторые ограничения в отношении сенсорных качеств, таких как модификации ароматических или летучих компонентов из-за длительного времени обработки. Традиционные системы вакуумного выпаривания с паром или горячей водой потребляют большое количество энергии при низкой энергоэффективности. Более того, обычное вакуумное выпаривание приводит к образованию нежелательных компонентов и к потере питательных веществ [55]. В качестве альтернативы вакуумное выпаривание гранатового сока с помощью ОН (при 7,5–12,5 В/см, выпаривание от 17,5% до 40% СВ) показало меньшее разложение сахара и снижение содержания гидроксиметилфурфурола. Однако на значение цветových показателей, антиоксидантную активность, общее содержание мономерных антоцианов и на общее содержание фенолов больше влияли электрохимические реакции на титановых электродах. Кроме того, для более точной оценки эффекта вакуумного выпаривания с помощью ОН на концентраты сока с высокой кислотностью использовались более электрохимически инертные электроды [78]. Большое влияние вакуумного нагрева с помощью ОН привело к сокращению времени обработки, температуры кипения и низких рабочих температур, что в итоге снизило потери качества продуктов во время производства [50]. Синергетическое воздействие ОН при различных градиентах напряжения (7,5–12,5 В/см) с вакуумным выпариванием было продемонстрировано для концентрирования гранатового сока, которое требует меньше времени обработки (снижение на 56% по сравнению с традиционной термической обработкой) при эффективном использовании энергии, что делает его пригодным для промышленных целей [14]. Установлено, что интеграция ОН в систему вакуумного выпаривания улучшила общее качество концентрирования (содержание СВ 30%) гранатового сока, дала самую высокую энергетическую и эксергическую эффективность, а также высокую скорость удаления воды по сравнению с вакуумным выпариванием. При использовании ОН (7,5–12,5 В/см) с вакуумным выпариванием увеличилось содержание сухих веществ гранатового сока с 17,5 до 40% [13].

ОН способствует вакуумному испарению с точки зрения эффективности использования энергии и эксергии и предотвращает частые требования к усовершенствованию системы. Авторы Tunç и другие [84] применяли вакуумное испарение с помощью ОН (17,5–25 В/см) для производства виноградного пекмеза (концентрированного сиропообразного продукта), которое потребляло меньше энергии по сравнению с обычным вакуумным выпариванием (57–50 мин). Авторы Sabanci and Icier [55] исследовали вакуумное выпаривание с помощью ОН (при 10–14 В/см, для концентрирования до 65% содержания СВ) для вишневого сока. По мнению авторов, общее потребление энергии снижалось по мере увеличения градиента напряжения; однако данный показатель возрастал при повышении содержания сухих веществ [55]. Torshizi M. V. с соавторами [97] установили, что длительное время обработки снижает энергоэффективность, но увеличивает потери и эффективность эксергии. Кроме того, градиент напряжения и процент потери веса образца связаны со временем процесса, с эффективностью использования энергии, с эффективностью и потерей эксергии и с потенциалом улучшения. Однако вакуумное выпаривание с помощью ОН можно использовать в качестве эффективной альтернативы вакуумного выпаривания концентратов фруктовых соков для получения аналогичных или лучших реологических свойств.

Комбинированное использование вакуумного нагрева с ОН (как гибридный вакуумный нагрев ОН) сохраняло качество пищевых про-

дуктов с точки зрения содержания питательных веществ. Так, к примеру, Darvishi и соавторы [47] исследовали условия вакуумного нагрева ОН во время процесса концентрирования апельсинового сока и сравнили их с отдельным процессом ОН (в атмосферных условиях) и с обычным вакуумным нагревом. Согласно результатам, комбинированный нагрев показал меньшую деградацию витамина С (10–29,2%) по сравнению с омическим (18,0–38,8%) и обычным нагревом (47,4%). Кроме того, рН, содержание общего фенола и антиоксидантная способность свежвыжатого и концентрированного сока в меньшей степени изменяются при омически-вакуумном нагревании. Согласно результатам, витамин С и общий фенол лучше сохранялись при увеличении напряжения, что сокращало время обработки.

Fadavi и другие [98] использовали различные комбинации обработок (ОН-вакуум при 10–30 В/см, 30–60 °С, атмосферное давление, вакуум 30 и 60 кПа) для грейпфрутового и лимонного соков. Грейпфрутовый сок имел более низкую электрическую проводимость (около 20%) по сравнению с лимонным соком при том же градиенте давления и напряжения. Хотя процент снижения скорости нагрева варьировался от 19% до 32%, давление значительно влияло на рН обоих соков. Однако авторы наблюдали большее снижение рН при меньшем времени обработки [98]. Abedelmaksoud с соавторами [99] применяли ультразвуковую обработку и ОН в лабораторных условиях (ультразвуковой датчик вместо обычных блендеров в смесительном резервуаре перед оборудованием ОН) для пастеризации неконцентрированного яблочного и апельсинового соков. Синергетический подход снизил 98% ПФО в яблочном соке и 96% ПМЭ в апельсиновом соке. При этом обработка ультразвуком и ОН улучшила содержание биологически активных веществ (аскорбиновая кислота, общее содержание каротиноидов и общее содержание фенолов) и цветовые характеристики соков. По мнению авторов, значительное увеличение общего содержания фенолов было получено в следующем порядке: ОН-обработка ультразвуком > термовзук > ОН > обычный нагрев [99,100].

Предварительная обработка ОН (40 °С в течение 20 мин; 40–100 °С в течение < 20 с) ускоряет процесс извлечения ценных фитохимических веществ, таких как антоцианы, из остатков виноделия (кожица винограда). Результаты показали, что ОН увеличивает проводимость, общее количество фенольных соединений, содержание растворимых сухих веществ и интенсивность красного цвета обработанных экстрактов. Предварительная обработка ОН (при высокой температуре в течение короткого времени) обеспечила быстрый внутренний нагрев кожицы винограда, что повысило содержание антоцианов: с 756 до 1349 мкг/г мальвидин-3-О-глюкозида [101].

ОН-очистка используется в качестве альтернативы обычной очистке фруктов и овощей. Однако комбинированная система ОН и небольших концентраций щелочи (гидроксида натрия или калия) или растворов солей обеспечивала лучшее качество очистки, чем процессы по отдельности [28,29,102].

### 3.5. Преимущества и недостатки использования технологии ОН в плодоовощном производстве

Технология ОН не только инактивирует микроорганизмы и пищевые ферменты, но и предотвращает перегрев и позволяет пище сохранять свое естественное качество без добавления синтетических консервантов. Однако нетермическое воздействие ОН включает электропорацию (электрической пробой), которая зависит от качества сырья и от параметров обработки ОН, таких как градиент напряжения, частота и температура [3,4]. Авторы Gavahian и другие [8] всесторонне исследовали текстурные свойства пищевых продуктов, подверженных тепловому и нетермическому воздействию ОН. Однако нетермический эффект обработки ОН в отношении микро- и макроструктур пищевых продуктов практически не изучен. Действие ОН исследовано во многих пищевых процессах, включая

пастеризацию, обжаривание, варку, приготовление пищи, сушку, стерилизацию, очистку от кожуры, микробиологическое ингибирование и извлечение полифенолов и антиоксидантов. В промышленности производстве непрерывная стерилизация ОН использовалась для высоковязких пищевых продуктов с такими преимуществами, как техническая простота, более высокая энергоэффективность и низкие капитальные затраты и затраты на техническое обслуживание [80,103]. Энергопотребление ОН было в 4,6–5,3 раза ниже, чем при обычном нагревании [104]. Усовершенствованные системы ОН имеют лучшую конструкцию или конфигурацию электродов, эффективный объемный нагрев или высокую скорость нагрева по сравнению с традиционной системой [32]. Быстрый нагрев (до желаемой температуры) сокращает время обработки, предотвращает сенсорные изменения и позволяет избежать чрезмерного термического повреждения термочувствительных компонентов. Кроме того, технология ОН для процессов очистки пищевых продуктов повышает выход по сравнению с традиционными методами, такими как очистка щелочью и паром, которые связаны с отходами, с высоким рН, с чрезмерным использованием воды и едких химикатов.

Несмотря на все преимущества, авторы научных исследований высказали ряд опасений по поводу промышленного применения метода ОН, включая коррозию электродов и ее потенциальное негативное влияние на здоровье потребителей, высокие капитальные вложения, отсутствие гарантий безопасности для обслуживающего персонала и неравномерный нагрев некоторых материалов в непрерывном режиме процесса. Согласно данным авторов Wang и Farid [105], ионы Ni и Cr переносятся с электродов из нержавеющей стали в пищу с меньшей скоростью, чем ионы Fe, что приводит к тому, что концентрации ионов Ni и Cr в приготовленной пище находятся в безопасном пределе использования при воздействии высокочастотной мощности. Авторы пришли к выводу, что оптимизация процесса, а именно применение соответствующей частоты (10 кГц вместо 50 Гц) и подходящих электродов может уменьшить химические изменения в продукте при обработке ОН [105]. Следует отметить и другие проблемы, которые связаны с вязкостью, электропроводностью и образованием отложений. Кроме того, возможность усиленного выщелачивания клеточных составов во время низкочастотного процесса ОН может быть нежелательной для некоторых продуктов по причине возможной потери питательных веществ.

### 4. Заключение

Исследования, проведенные в течение более двух десятилетий, направлены на разработку эффективных технологий, гарантирующих не только безопасность пищевых продуктов, но и повышение их качества (улучшение внешнего вида, сохранение пищевой ценности и т. д.), увеличение срока хранения и снижение производственных затрат. Обзор научных публикаций показал, что исследования технологии омического нагрева подтверждают эффективность ее использования для инактивации микроорганизмов и ферментов, воздействующих на фрукты и овощи. Выпаривание/концентрирование, обезвоживание/сушка фруктовых соков или пюре с помощью ОН способствовали более высокой энергоэффективности и сокращению времени обработки по сравнению с традиционной термической обработкой при сохранении биологически активных соединений. Результаты научных исследований показали эффективность ОН в качестве предварительной обработки перед проведением сушки, концентрирования, экстракции. Кроме того, учеными доказана целесообразность сочетания метода омического нагрева с термическими и нетермическими технологиями. Стоит отметить, что для масштабного промышленного внедрения необходимо проведение дальнейших углубленных исследований распределения температуры внутри пищевых продуктов с целью обеспечения равномерности их нагрева.

## БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

- Jaeger, H., Roth, A., Toepfl, S., Holzhauser, T., Engel, K.-H., Knorr, D. et al. (2016). Opinion on the use of ohmic heating for the treatment of foods. *Trends in Food Science and Technology*, 55, 84–97. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2016.07.007>
- Бурак, Л.Ч., Завалей, А.П. (2021). Исследование соков с высокой антиоксидантной активностью, консервированных омической пастеризацией. *Технологии пищевой и перерабатывающей промышленности АПК — продукты здорового питания*, 4, 38–47. <https://doi.org/10.24412/2311-6447-2021-4-38-47>
- Макроо, Н. А., Prabhakar, P. K., Rastogi, N. K., Srivastava, B. (2019). Characterization of mango puree based on total soluble solids and acid content: Effect on physico-chemical, rheological, thermal and ohmic heating behavior. *LWT*, 103, 316–324. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2019.01.003>
- Gavahian, M., Chu, Y.-H., Sastry, S. (2018). Extraction from food and natural products by moderate electric field: Mechanisms, benefits, and potential industrial applications. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 17(4), 1040–1052. <https://doi.org/10.1111/15414337.12362>
- Tian, X., Yu, Q., Wu, W., Dai, R. (2018). Inactivation of microorganisms in foods by ohmic heating: A review. *Journal of Food Protection*, 81(7), 1093–1107. <https://doi.org/10.4315/0362-028X.JFP-17-343>
- Kim, S.-S., Lee, J.-I., Kang, D.-H. (2019). Resistance of *Escherichia coli* O157:H7 ATCC35150 to ohmic heating as influenced by growth temperature and sodium chloride concentration in salsa. *Food Control*, 103, 119–125. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2019.03.037>
- Suebsiri, N., Kokilakanistha, P., Laojaruwat, T., Tumpanuvat, T., Jittanit, W. (2019). The application of ohmic heating in lactose-free milk pasteurization in comparison with conventional heating, the metal contamination, and the ice cream products. *Journal of Food Engineering*, 262, 39–48. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2019.05.017>

8. Gavahian, M., Chu, Y.-H., Farahnaky, A. (2019). Effects of ohmic and microwave cooking on textural softening and physical properties of rice. *Journal of Food Engineering*, 243, 114–124. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2018.09.010>
9. Ramírez-Jiménez, A. K., Rangel-Hernández, J., Morales-Sánchez, E., Loarca-Piña, G., Gaytán-Martínez, M. (2019). Changes on the phytochemicals profile of instant corn flours obtained by traditional nixtamalization and ohmic heating process. *Food Chemistry*, 276, 57–62. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.09.166>
10. Aydin, C., Kurt, Ü., Kaya, Y. (2020). Comparison of the effects of ohmic and conventional heating methods on some quality parameters of the hot-smoked fish Pâté. *Journal of Aquatic Food Product Technology*, 29(4), 407–416. <https://doi.org/10.1080/10498850.2020.1741752>
11. Lyng, J. G., Clemente, I., McKenna, B. M. (2019). Ohmic pasteurization of meat and meat products. Chapter in a book: Handbook of farm, dairy and food machinery engineering. Amsterdam: Elsevier Inc. 2019. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-814803-7.00023-3>
12. Achir, N., Dhuique-Mayer, C., Hadjal, T., Madani, K., Pain, J.-P., Dornier, M. (2016). Pasteurization of citrus juices with ohmic heating to preserve the carotenoid profile. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 33, 397–404. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2015.11.002>
13. Cokgezme, O. F., Sabanci, S., Cevik, M., Yildiz, H., Icier, F. (2017). Performance analyses for evaporation of pomegranate juice in ohmic heating assisted vacuum system. *Journal of Food Engineering*, 207, 1–9. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2017.03.015>
14. Icier, F., Yildiz, H., Sabanci, S., Cevik, M., Cokgezme, O. F. (2017). Ohmic heating assisted vacuum evaporation of pomegranate juice: Electrical conductivity changes. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 39, 241–246. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2016.12.014>
15. Moreno, J., Simpson, R., Pizarro, N., Pavez, C., Dorvil, F., Petzold, G. et al. (2013). Influence of ohmic heating/osmotic dehydration treatments on polyphenoloxidase inactivation, physical properties and microbial stability of apples (cv. Granny smith). *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 20, 198–207. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2013.06.006>
16. Moreno, J., Echeverria, J., Silva, A., Escudero, A., Petzold, G., Mella, K. et al. (2017). Apple snack enriched with L-arginine using vacuum impregnation/ohmic heating technology. *Food Science and Technology International*, 23(5), 448–456. <https://doi.org/10.1177/1082013217701354>
17. Moreno, J., Zúñiga, P., Dorvil, F., Petzold, G., Mella, K., Buguño, G. (2017). Osmodehydration assisted by ohmic heating/pulse vacuum in apples (cv. Fuji): Retention of polyphenols during refrigerated storage. *International Journal of Food Science and Technology*, 52(5), 1203–1210. <https://doi.org/10.1111/ijfs.13385>
18. Farahnaky, A., Kamali, E., Golmakani, M. T., Gavahian, M., Mesbahi, G., Majzoubi, M. (2017). Effect of ohmic and microwave cooking on some bioactive compounds of kohlrabi, turnip, potato, and radish. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 12(4), 2561–2569. <https://doi.org/10.1007/s11694-018-9873-6>
19. Jittanit, W., Khuenpet, K., Kaewstri, P., Dumrongpongpaiboon, N., Hayamin, P., Jantarangri, K. (2017). Ohmic heating for cooking rice: Electrical conductivity measurements, textural quality determination and energy analysis. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 42, 16–24. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2017.05.008>
20. Lascorz, D., Torella, E., Lyng, J. G., Arroyo, C. (2016). The potential of ohmic heating as an alternative to steam for heat processing shrimps. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 37(C), 329–335. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2016.06.014>
21. Soghani, B. N., Azadbakht, M., Darvishi, H. (2018). Ohmic blanching of white mushroom and its pretreatment during microwave drying. *Heat and Mass Transfer*, 54(12), 3715–3725. <https://doi.org/10.1007/s00231-018-2393-4>
22. Bender, D., Gratz, M., Vogt, S., Fauster, T., Wicki, B., Pichler, S. et al. (2019). Ohmic heating – A novel approach for gluten-free bread baking. *Food and Bioprocess Technology*, 12(9), 1603–1613. <https://doi.org/10.1007/s11947-019-02324-9>
23. Masure, H. G., Wouters, A. G. B., Fierens, E., Delcour, J. A. (2019). Electrical resistance oven baking as a tool to study crumb structure formation in gluten-free bread. *Food Research International*, 116, 925–931. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2018.09.029>
24. Gavahian, M., Sastry, S., Farhoosh, R., Farahnaky, A. (2020). Ohmic heating as a promising technique for extraction of herbal essential oils: Understanding mechanisms, recent findings, and associated challenges. *Advances in Food and Nutrition Research*, 91, 227–273. <https://doi.org/10.1016/bs.afnr.2019.09.001>
25. Kristinawati, A., Nikmatin, S., Irmansyah, Setyaningsih, D. (19–20 August 2019). Extraction of citronella oil using an ohmic heating method. IOP Conference Series: Earth and Environmental Science. West Java, Indonesia. 2019. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/460/1/012014>
26. Termittikul, P., Jittanit, W., Sirisansaneeyakul, S. (2018). The application of ohmic heating for inulin extraction from the wet-milled and drymilled powders of Jerusalem artichoke (*Helianthus tuberosus* L.) tuber. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 48, 99–110. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2018.05.022>
27. Duygu, B., Ümit, G. (2015). Application of ohmic heating system in meat thawing. *Procedia – Social and Behavioral Sciences*, 195, 2822–2828. <https://doi.org/10.1016/j.sbspro.2015.06.400>
28. Wongsan-Ngasri, P., Sastry, S. K. (2016). Tomato peeling by ohmic heating: Effects of lye-salt combinations and post-treatments on weight loss, peeling quality and firmness. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 34, 148–153. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2016.01.013>
29. Wongsan-Ngasri, P., Sastry, S. K. (2016). Tomato peeling by ohmic heating with lye-salt combinations: Effects of operational parameters on peeling time and skin diffusivity. *Journal of Food Engineering*, 186, 10–16. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2016.04.005>
30. Farahnaky, A., Azizi, R., Gavahian, M. (2012). Accelerated texture softening of some root vegetables by ohmic heating. *Journal of Food Engineering*, 113(2), 275–280. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2012>
31. Makroo, H. A., Saxena, J., Rastogi, N. K., Srivastava, B. (2017). Ohmic heating assisted polyphenol oxidase inactivation of watermelon juice: Effects of the treatment on pH, lycopene, total phenolic content, and color of the juice. *Journal of Food Processing and Preservation*, 41(6), Article e13271. <https://doi.org/10.1111/jfpp.13271>
32. Muhammad, A. I., Shitu, A., Tadda, M. A. (2019). Ohmic heating as alternative preservation technique – A review. *Arid Zone Journal of Engineering, Technology and Environment*, 15(2), 268–277.
33. Vicente, A., de Castro, I., Teixeira, J. A., Machado, L. F. (2011). Ohmic heating treatment. Chapter in a book: Handbook of food safety engineering. Hoboken, NJ: Blackwell Publishing, 2011. <https://doi.org/10.1002/9781444355321.ch27>
34. Cappato, L. P., Ferreira, M. V. S., Guimaraes, J. T., Portela, J. B., Costa, A. L. R., Freitas, M. Q. et al. (2017). Ohmic heating in dairy processing: Relevant aspects for safety and quality. *Trends in Food Science and Technology*, 62, 104–112. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2017.01.010>
35. Silva, V. L. M., Santos, L. M. N. B. F., Silva, A. M. S. (2017). Ohmic heating: An emerging concept in organic synthesis. *Chemistry – A European Journal*, 23(33), 7855–7865. <https://doi.org/10.1002/chem.201700307>
36. Hashemi, S. M. B., Roohi, R. (2019). Ohmic heating of blended citrus juice: Numerical modeling of process and bacterial inactivation kinetics. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 52, 313–324. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2019.01.012>
37. Li, X., Xu, X., Wang, L., Regenstein, J. M. (2019). Effect of ohmic heating on physicochemical properties and the key enzymes of water chestnut juice. *Journal of Food Processing and Preservation*, 43(4), Article e13919. <https://doi.org/10.1111/jfpp.13919>
38. Darvishi, H., Hosainpour, A., Nargesi, F., Fadavi, A. (2015). Exergy and energy analyses of liquid food in an ohmic heating process: A case study of tomato production. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 31, 75–82. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2015.06.012>
39. Khue, D. N., Tiep, H. T., Dat, L. Q., Kim Phung, L. T., Tam, L. N. (2020). Influence of frequency and temperature on the inactivation of salmonella enterica serovar enteritidis in ohmic heating of pomelo juice. *LWT*, 129, Article 109528. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.109528>
40. Doan, N. K., Lai, Q. D., Le, T. K. P., Le, N. T. (2021). Influences of AC frequency and electric field strength on changes in bioactive compounds in ohmic heating of pomelo juice. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 72, Article 102754. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2021.102754>
41. Shao, L., Liu, Y., Tian, X., Yu, Q., Wang, H., Li, X. et al. (2021). Inactivation and recovery of *Staphylococcus aureus* in milk, apple juice and broth treated with ohmic heating. *LWT*, 139, Article 110545. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.110545>
42. Rodríguez, L. M. N., Arias, R., Soteras, T., Sancho, A., Pesquero, N., Rossetti, L. et al. (2021). Comparison of the quality attributes of carrot juice pasteurized by ohmic heating and conventional heat treatment. *LWT*, 145, Article 111255. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.111255>
43. Kumar, T. (2020). Development of a laboratory scale ohmic heating system for pasteurization of grape juice. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 9(3), 235–238.
44. Sudheer, K. P., Ashitha, G. N., Prince, M. V. (2020). Mild thermal processing of cashew apple juice using ohmic heating. *Journal of Tropical Agriculture*, 58(1), 44–52.
45. Hardinasinta, G., Salengke, S., Mursalin, Muhidong, J. (7–9 October 2020). Evaluation of ohmic heating for sterilization of berry-like fruit juice of mulberry (*Morus nigra*), bignay (*Antidesma bunius*), and jambolana (*Syzygium cumini*). IOP Conference Series: Materials Science and Engineering, Volume 1034, 2nd International Conference on Mechanical Engineering Research and Application (iCOMERA 2020), Malang, Indonesia, 2020. <https://doi.org/10.1088/1757-899x/1034/1/012050>
46. Brochier, B., Mercali, G. D., Marczak, L. D. F. (2018). Effect of ohmic heating parameters on peroxidase inactivation, phenolic compounds degradation and color changes of sugarcane juice. *Food and Bioprocess Technology*, 111, 62–71. <https://doi.org/10.1016/j.fbp.2018.07.003>
47. Darvishi, H., Mohammadi, P., Fadavi, A., Saba, M. K., Behroozi-Khazaei, N. (2019). Quality preservation of orange concentrate by using hybrid ohmic – Vacuum heating. *Food Chemistry*, 289, 292–298. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.03.045>
48. Ferreira, M. V. S., Cappato, L. P., Silva, R., Rocha, R. S., Guimarães, J. T., Balthazar, C. F. et al. (2019). Ohmic heating for processing of whey-raspberry flavored beverage. *Food Chemistry*, 297, Article 125018. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.125018>
49. Makroo, H. A., Prabhakar, P. K., Rastogi, N. K., Srivastava, B. (2019). Characterization of mango puree based on total soluble solids and acid content: Effect on physico-chemical, rheological, thermal and ohmic heating behavior. *LWT*, 103, 316–324. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2019.01.003>
50. Fadavi, A., Yousefi, S., Darvishi, H., Mirsaedghazi, H. (2018). Comparative study of ohmic vacuum, ohmic, and conventional-vacuum heating methods on the quality of tomato concentrate. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 47, 225–230. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2018.03.004>
51. Hwang, J. H., Jung, A. H., Park, S. H. (2022). Efficacy of ohmic vacuum concentration for orange juice concentrates and their physicochemical properties under different voltage gradients. *LWT*, 154, Article 112750. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.112750>
52. Sabanci, S., Icier, F. (2022). Evaluation of an ohmic assisted vacuum evaporation process for orange juice pulp. *Food and Bioprocess Technology*, 131, 156–163. <https://doi.org/10.1016/j.fbp.2021.09.009>
53. Sabanci, S., Cevik, M., Göksu, A. (2021). Investigation of time effect on pectin production from citrus wastes with ohmic heating assisted extraction process. *Journal of Food Process Engineering*, 44(6), Article e13689. <https://doi.org/10.1111/jfpe.13689>
54. Norouzi, S., Fadavi, A., Darvishi, H. (2021). The ohmic and conventional heating methods in concentration of sour cherry juice: Quality and engineering factors. *Journal of Food Engineering*, 291, Article 110242. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2020.110242>

55. Sabanci, S., Icier, F. (2021). Enhancement of the performance of sour cherry juice concentration process in vacuum evaporator by assisting Ohmic heating source. *Food and Bioproducts Processing*, 122, 269–279. <https://doi.org/10.1016/j.fbp.2020.05.004>
56. Darvishi, H., Behroozi-Khazaei, N., Saba, M. K., Alimohammadi, Z., Nourbakhsh, H. (2021). The influence of ohmic/vacuum heating on phenol, ascorbic acid and engineering factors of kiwifruit juice concentration process. *International Journal of Food Science and Technology*, 56(9), 4789–4798. <https://doi.org/10.1111/IJFS.15160>
57. Cevik, M. (2021). Electrical conductivity and performance evaluation of verjuice concentration process using ohmic heating method. *Journal of Food Process Engineering*, 44(5), Article e13672. <https://doi.org/10.1111/jfpe.13672>
58. Barron-García, O. Y., Gaytán-Martínez, M., Ramírez-Jiménez, A. K., Luzardo-Ocampo, I., Velazquez, G., Morales-Sánchez, E. (2021). Physicochemical characterization and polyphenol oxidase inactivation of Ataulfo mango pulp pasteurized by conventional and ohmic heating processes. *LWT*, 143, Article 111113. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.111113>
59. Makroo, H. A., Rastogi, N. K., Srivastava, B. (2017). Enzyme inactivation of tomato juice by ohmic heating and its effects on physico-chemical characteristics of concentrated tomato paste. *Journal of Food Process Engineering*, 40(3), Article e12464. <https://doi.org/10.1111/jfpe.12464>
60. Brochier, B., Hertz, P. F., Marczak, L. D. F., Mercali, G. D. (2020). Influence of ohmic heating on commercial peroxidase and sugarcane juice peroxidase inactivation. *Journal of Food Engineering*, 284, Article 110066. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2020.110066>
61. Saxena, J., Makroo, H. A., Srivastava, B. (2016). Optimization of timeelectric field combination for PPO inactivation in sugarcane juice by ohmic heating and its shelf life assessment. *LWT – Food Science and Technology*, 71, 329–338. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2016.04.015>
62. Morales-Sánchez, E., Díaz-Cruz, A., Regalado, C., Velázquez, G., González-Jasso, E., Gaytán-Martínez, M. (2019). Inactivation of mango pectinmethylesterase by ohmic heating. *Revista Bio Ciencias*, 6, Article e665. <https://doi.org/10.15741/revbio.06.e665>
63. Jakob, A., Bryjak, J., Wojtowicz, H., Illeová, V., Annus, J., Polakovič, M. (2010). Inactivation kinetics of food enzymes during ohmic heating. *Food Chemistry*, 123(2), 369–376. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.04.047>
64. İcier, F., Yildiz, H., Baysal, T. (2008). Polyphenoloxidase deactivation kinetics during ohmic heating of grape juice. *Journal of Food Engineering*, 85(3), 410–417. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2007.08.002>
65. Kumar, V., Jain, S. K., Amitabh, A., Chavan, S. M. (2021). Effect of ohmic heating on physicochemical, bioactive compounds, and shelf life of watermelon flesh-rind drinks. *Journal of Food Process Engineering*, 45(7) Article e13818. <https://doi.org/10.1111/jfpe.13818>
66. Rodrigues, N. P., Brochier, B., de Medeiros, J. K., Marczak, L. D. F., Mercali, G. D. (2021). Phenolic profile of sugarcane juice: Effects of harvest season and processing by ohmic heating and ultrasound. *Food Chemistry*, 347, Article 129058. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.129058>
67. Khuenpet, K., Jittanit, W. (2020). The effects of pasteurization by conventional and ohmic heating methods and concentration processes on the Madan (Garcinia schomburgkiana Pierre) juice properties. *Applied Engineering in Agriculture*, 36(2), 205–219. <https://doi.org/10.13031/aea.13618>
68. Darvishi, H., Salami, P., Fadavi, A., Saba, M. K. (2020). Processing kinetics, quality and thermodynamic evaluation of mulberry juice concentration process using Ohmic heating. *Food and Bioproducts Processing*, 123, 102–110. <https://doi.org/10.1016/j.fbp.2020.06.003>
69. Doan, K. N., Lai, D. Q., Kim Le, P. T., Le, T. N. (2021). Inactivation of pectin methylesterase and Lactobacillus plantarum by ohmic heating in pomelo juice. *International Journal of Food Science and Technology*, 56(4), 1987–1995. <https://doi.org/10.1111/ijfs.14830>
70. Debbarma, T., Thangalakshmi, S., Tadakod, M., Singh, R., Singh, A. (2021). Comparative analysis of ohmic and conventional heat-treated carrot juice. *Journal of Food Processing and Preservation*, 45(9), Article e15687. <https://doi.org/10.1111/jfpp.15687>
71. Cho, W.-I., Kim, E.-J., Hwang, H.-J., Cha, Y.-H., Cheon, H. S., Choi, J.-B. et al. (2017). Continuous ohmic heating system for the pasteurization of fermented red pepper paste. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 42, 190–196. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2017.07.020>
72. Priyadarshini, A., Rayaguru, K., Nayak, P. K., Lenka, C. (2021). Efficiency of ohmic heating for microbial inactivation in mango (*Mangifera indica* L.) pulp. *International Journal of Pharmaceutical Research*, 13(1), 4460–4465. <https://doi.org/10.31838/ijpr/2021.13.01.592>
73. Sarkis, J. R., Jaeschke, D. P., Mercali, G. D., Tessaro, I. C., Marczak, L. D. F. (2019). Degradation kinetics of anthocyanins in blackberry pulp during ohmic and conventional heating. *International Food Research Journal*, 26(1), 87–97.
74. Darvishi, H., Saba, M. K., Behroozi-Khazaei, N., Nourbakhsh, H. (2020). Improving quality and quantity attributes of grape juice concentrate (molasses) using ohmic heating. *Journal of Food Science and Technology*, 57(4), 1362–1370. <https://doi.org/10.1007/s13197-01904170-1>
75. Junqua, R., Carullo, D., Ferrari, G., Pataro, G., Ghidossi, R. (2021). Ohmic heating for polyphenol extraction from grape berries: An innovative prefermentary process. *OENO One*, 55(3), 39–51. <https://doi.org/10.20870/oeno-one.2021.55.3.4647>
76. Kutlu, N., İsci, A., Sakiyan, O., Yilmaz, A. E. (2021). Effect of ohmic heating on ultrasound extraction of phenolic compounds from cornelian cherry (*Cornus mas*). *Journal of Food Processing and Preservation*, 45(10), Article e15818. <https://doi.org/10.1111/jfpp.15818>
77. Rinaldi, M., Littardi, P., Paciulli, M., Ganino, T., Cocconi, E., Barbanti, D. et al. (2020). Impact of ohmic heating and high pressure processing on qualitative attributes of ohmic treated peach cubes in syrup. *Foods*, 9(8), Article 1093. <https://doi.org/10.3390/foods9081093>
78. Sabanci, S., Cevik, M., Cokgezme, O. F., Yildiz, H., İcier, F. (2019). Quality characteristics of pomegranate juice concentrates produced by ohmic heating assisted vacuum evaporation. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 99(5), 2589–2595. <https://doi.org/10.1002/jsfa.9474>
79. Ghadiri, H., Ziaifar, A. M., Ghorbani, M., Aghazadeh, S. (2020). Use of Ohmic heating system in peeling tomato and its effect on physicochemical properties of the product. *Journal of Food Research*, 30(2), 57–68.
80. Priyadarshini, A., Rayaguru, K., Nayak, P. K. (2020). Influence of Ohmic heating on fruits and vegetables: A review. *Journal of Critical Reviews*, 7(19), 1952–1959.
81. Mannozi, C., Romponpol, K., Fauster, T., Tylewicz, U., Romani, S., Rosa, D. M. et al. (2019). Influence of pulsed electric field and fruit and vegetable juices. *Foods*, 8(7), Article 247. <https://doi.org/10.3390/foods8070247>
82. Rinaldi, M., Littardi, P., Ganino, T., Aldini, A., Rodolfi, M., Barbanti, D. et al. (2020). Comparison of physical, microstructural, antioxidant and enzymatic properties of pineapple cubes treated with conventional heating, ohmic heating and high-pressure processin. *LWT*, 134, Article 110207. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.110207>
83. Alkanan, Z. T., Al-Hilphy, A. R. S., Altemimi, A. B., Mandal, R., Pratap-Singh, A. (2021). Comparison of quality characteristics of tomato paste produced under ohmic-vacuum combination heating and conventional heating. *Applied Food Research*, 1(2), Article 100014. <https://doi.org/10.1016/j.AFRES.2021.100014>
84. Tuñç, M. T., Akdoğan, A., Baltacı, C., Kaya, Z., Odabaş, H. İ. (2022). Production of grape pekmez by Ohmic heating-assisted vacuum evaporation. *Food Science and Technology International*, 28(1), 72–84. <https://doi.org/10.1177/1082013221991616>
85. Kanjanapongkul, K., Baibua, V. (2021). Effects of ohmic pasteurization of coconut water on polyphenol oxidase and peroxidase inactivation and pink discoloration prevention. *Journal of Food Engineering*, 292, Article 110268. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2020.110268>
86. Alkanan, Z. T., Altemimi, A. B., Al-Hilphy, A. R. S., Watson, D. G., Pratap-Singh, A. (2021). Ohmic heating in the food industry: Developments in concepts and applications during 2013–2020. *Applied Sciences (Switzerland)*, 11(6), Article 2507. <https://doi.org/10.3390/app11062507>
87. Cokgezme, O. F., İcier, F. (2019). Effect of voltage gradient on ohmic thawing characteristics of sour cherry juice concentrates for the temperature range of –18 °C to +4 °C. *Food Science and Technology International*, 25(8), 659–670. <https://doi.org/10.1177/1082013219857897>
88. Cao, X., Islam, M. N., Xu, W., Chen, J., Chitrakar, B., Jia, X. et al. (2020). Energy consumption, colour, texture, antioxidants, odours, and taste qualities of litchi fruit dried by intermittent ohmic heating. *Foods*, 9(4), Article 425. <https://doi.org/10.3390/foods9040425>
89. Poojitha, P., Athmaselvi, K. A. (2020). Effect of ohmic blanching on drying kinetics, physicochemical and functional properties of garlic powder. *Journal of Food Science and Technology*, 60, 845–855. <https://doi.org/10.1007/s13197-020-04676-z>
90. Kutlu, N. (2022). Optimization of ohmic heating-assisted osmotic dehydration as a pretreatment for microwave drying of quince. *Food Science and Technology International*, 28(1), 60–71. <https://doi.org/10.1177/1082013221991613>
91. Moreno, J., Simpson, R., Estrada, D., Lorenzen, S., Moraga, D., Almonacid, S. (2011). Effect of pulsed-vacuum and ohmic heating on the osmodehydration kinetics, physical properties and microstructure of apples (cv. Granny smith). *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 12(4), 562–568. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2011.06.011>
92. Moreno, J., Espinoza, C., Simpson, R., Petzold, G., Nuñez, H., Gianelli, M. P. (2016). Application of ohmic heating/vacuum impregnation treatments and air drying to develop an apple snack enriched in folic acid. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 33, 381–386. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2015.12.014>
93. Rinaldi, M., Langialonga, P., Dhenge, R., Aldini, A., Chiavaro, E. (2021). Quality traits of apple puree treated with conventional, ohmic heating and high-pressure processing. *European Food Research and Technology*, 247(7), 1679–1688. <https://doi.org/10.1007/s00217-021-03738-6>
94. Moreno, J., Gonzales, M., Zúñiga, P., Petzold, G., Mella, K., Muñoz, O. (2017). Ohmic heating and pulsed vacuum effect on dehydration processes and polyphenol component retention of osmodehydrated blueberries (cv. Tibblue). *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 36, 112–119. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2016.06.005>
95. Moreno, J., Simpson, R., Pizarro, N., Parada, K., Pinilla, N., Reyes, J. E. et al. (2012). Effect of ohmic heating and vacuum impregnation on the quality and microbial stability of osmotically dehydrated strawberries (cv. Camarosa). *Journal of Food Engineering*, 110(2), 310–316. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2011.03.005>
96. Kumar, A., Begum, A., Hoque, M., Hussain, S., Srivastava, B. (2021). Textural degradation, drying and rehydration behaviour of ohmically treated pineapple cubes. *LWT*, 142, Article 110988. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.110988>
97. Torshizi, M. V., Azadbakht, M., Kashaninejad, M. (2020). Application of response surface method to energy and exergy analyses of the ohmic heating dryer for sour orange juice. *Fuel*, 278, Article 118261. <https://doi.org/10.1016/j.fuel.2020.118261>
98. Fadavi, A., Salari, S. (2019). Ohmic heating of lemon and grapefruit juices under vacuum pressure – Comparison of electrical conductivity and heating rate. *Journal of Food Science*, 84(10), 2868–2875. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.14802>
99. Abdelmaksoud, T. G., Mohsen, S. M., Duedahl-Olesen, L., Elnikeety, M. M., Feysa, A. H. (2019). Impact of ohmicsonication treatment on pectinmethylesterase in not-from-concentrate orange juice. *Journal of Food Science and Technology*, 56(8), 3951–3956. <https://doi.org/10.1007/s13197-019-03834-2>
100. Abdelmaksoud, T. G., Mohsen, S. M., Duedahl-Olesen, L., Elnikeety, M. M., Feysa, A. H. (2019). Optimization of ohmicsonication for overall quality characteristics of NFC apple juice. *Journal of Food Processing and Preservation*, 43(9), Article e14087. <https://doi.org/10.1111/jfpp.14087>
101. Pereira, R. N., Coelho, M. I., Genisheva, Z., Fernandes, J. M., Vicente, A. A., Pintado, M. E. et al. (2020). Using Ohmic heating effect on grape skins as a pretreatment for anthocyanins extraction. *Food and Bioproducts Processing*, 124, 320–328. <https://doi.org/10.1016/j.fbp.2020.09.009>
102. Wongsan-Ngasri, P., Sastry, S. K. (2015). Effect of ohmic heating on tomato peeling. *LWT*, 61(2), 269–274. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2014.12.053>
103. Indarti, R., Rezaharsanto, B. (2020). A review on ohmic heating and its use in food. *International Journal of Scientific and Technology Research*, 9(2), 485–490.

104. Alkanan, Z. T., Al-Hilphy, A. R. S., Altemimi, A. B., Mandal, R., Pratap-Singh, A. (2021). Comparison of quality characteristics of tomato paste produced under ohmic-vacuum combination heating and conventional heating. *Applied Food Research*, 1(2), Article 100014. <https://doi.org/10.1016/j.AFRES.2021.100014>

105. Wang, R., Farid, M. M. (2015). Corrosion and health aspects in ohmic cooking of beef meat patties. *Journal of Food Engineering*, 146, 17–22. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2014.08.011>

## REFERENCES

- Jaeger, H., Roth, A., Toepfl, S., Holzhauser, T., Engel, K.-H., Knorr, D. et al. (2016). Opinion on the use of ohmic heating for the treatment of foods. *Trends in Food Science and Technology*, 55, 84–97. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2016.07.007>
- Burak, L. Ch., Zavaley, A. P. (2021). Study of juices with high antioxidant activity preserved by ohmic pasteurization. *Technologies of the Food and Processing Industry of the Agro-Industrial Complex – Healthy Food Products*, 4, 38–47 <https://doi.org/10.24412/2311-6447-2021-4-38-47> (In Russian)
- Makroo, H. A., Prabhakar, P. K., Rastogi, N. K., Srivastava, B. (2019). Characterization of mango puree based on total soluble solids and acid content: Effect on physico-chemical, rheological, thermal and ohmic heating behavior. *LWT*, 103, 316–324. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2019.01.003>
- Gavahian, M., Chu, Y.-H., Sastry, S. (2018). Extraction from food and natural products by moderate electric field: Mechanisms, benefits, and potential industrial applications. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 17(4), 1040–1052. <https://doi.org/10.1111/15414337.12362>
- Tian, X., Yu, Q., Wu, W., Dai, R. (2018). Inactivation of microorganisms in foods by ohmic heating: A review. *Journal of Food Protection*, 81(7), 1093–1107. <https://doi.org/10.4315/0362-028X.JFP-17-343>
- Kim, S.-S., Lee, J.-I., Kang, D.-H. (2019). Resistance of *Escherichia coli* O157:H7 ATCC35150 to ohmic heating as influenced by growth temperature and sodium chloride concentration in salsa. *Food Control*, 103, 119–125. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2019.05.037>
- Suebsiri, N., Kokilakanistha, P., Laojaruwat, T., Tumpanuvat, T., Jittanit, W. (2019). The application of ohmic heating in lactose-free milk pasteurization in comparison with conventional heating, the metal contamination, and the ice cream products. *Journal of Food Engineering*, 262, 39–48. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2019.05.017>
- Gavahian, M., Chu, Y.-H., Farahnaky, A. (2019). Effects of ohmic and microwave cooking on textural softening and physical properties of rice. *Journal of Food Engineering*, 243, 114–124. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2018.09.010>
- Ramírez-Jiménez, A. K., Rangel-Hernández, J., Morales-Sánchez, E., Loarca-Piña, G., Gaytán-Martínez, M. (2019). Changes on the phytochemicals profile of instant corn flours obtained by traditional nixtamalization and ohmic heating process. *Food Chemistry*, 276, 57–62. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.09.166>
- Aydin, C., Kurt, Ü., Kaya, Y. (2020). Comparison of the effects of ohmic and conventional heating methods on some quality parameters of the hot-smoked fish Pâté. *Journal of Aquatic Food Product Technology*, 29(4), 407–416. <https://doi.org/10.1080/10498850.2020.1741752>
- Lyng, J. G., Clemente, I., McKenna, B. M. (2019). Ohmic pasteurization of meat and meat products. Chapter in a book: Handbook of farm, dairy and food machinery engineering. Amsterdam: Elsevier Inc. 2019. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-814803-7.00023-3>
- Achir, N., Dhuique-Mayer, C., Hadjal, T., Madani, K., Pain, J.-P., Dornier, M. (2016). Pasteurization of citrus juices with ohmic heating to preserve the carotenoid profile. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 33, 397–404. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2015.11.002>
- Cokgezme, O. F., Sabanci, S., Cevik, M., Yildiz, H., Icier, F. (2017). Performance analyses for evaporation of pomegranate juice in ohmic heating assisted vacuum system. *Journal of Food Engineering*, 207, 1–9. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2017.03.015>
- Icier, F., Yildiz, H., Sabanci, S., Cevik, M., Cokgezme, O. F. (2017). Ohmic heating assisted vacuum evaporation of pomegranate juice: Electrical conductivity changes. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 39, 241–246. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2016.12.014>
- Moreno, J., Simpson, R., Pizarro, N., Pavez, C., Dorvil, F., Petzold, G. et al. (2013). Influence of ohmic heating/osmotic dehydration treatments on polyphenoloxidase inactivation, physical properties and microbial stability of apples (cv. Granny smith). *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 20, 198–207. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2013.06.006>
- Moreno, J., Echeverria, J., Silva, A., Escudero, A., Petzold, G., Mella, K. et al. (2017). Apple snack enriched with L-arginine using vacuum impregnation/ohmic heating technology. *Food Science and Technology International*, 23(5), 448–456. <https://doi.org/10.1177/1082013217701354>
- Moreno, J., Zúñiga, P., Dorvil, F., Petzold, G., Mella, K., Bugueño, G. (2017). Osmodehydration assisted by ohmic heating/pulse vacuum in apples (cv. Fuji): Retention of polyphenols during refrigerated storage. *International Journal of Food Science and Technology*, 52(5), 1203–1210. <https://doi.org/10.1111/ijfs.13385>
- Farahnaky, A., Kamali, E., Golmakani, M. T., Gavahian, M., Mesbahi, G., Majzoobi, M. (2017). Effect of ohmic and microwave cooking on some bioactive compounds of kohlrabi, turnip, potato, and radish. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 12(4), 2561–2569. <https://doi.org/10.1007/s11694-018-9873-6>
- Jittanit, W., Khuenpet, K., Kaewsri, P., Dumrongponpaiboon, N., Hayamin, P., Jantarangsi, K. (2017). Ohmic heating for cooking rice: Electrical conductivity measurements, textural quality determination and energy analysis. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 42, 16–24. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2017.05.008>
- Lascorz, D., Torella, E., Lyng, J. G., Arroyo, C. (2016). The potential of ohmic heating as an alternative to steam for food processing shrimps. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 37(C), 329–335. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2016.06.014>
- Soghani, B. N., Azadbakht, M., Darvishi, H. (2018). Ohmic blanching of white mushroom and its pretreatment during microwave drying. *Heat and Mass Transfer*, 54(12), 3715–3725. <https://doi.org/10.1007/s00251-018-2393-4>
- Bender, D., Gratz, M., Vogt, S., Fauster, T., Wicki, B., Pichler, S. et al. (2019). Ohmic heating – A novel approach for gluten-free bread baking. *Food and Bioprocess Technology*, 12(9), 1603–1613. <https://doi.org/10.1007/s11947-019-02324-9>
- Masure, H. G., Wouters, A. G. B., Fierens, E., Delcour, J. A. (2019). Electrical resistance oven baking as a tool to study crumb structure formation in gluten-free bread. *Food Research International*, 116, 925–931. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2018.09.029>
- Gavahian, M., Sastry, S., Farhoosh, R., Farahnaky, A. (2020). Ohmic heating as a promising technique for extraction of herbal essential oils: Understanding mechanisms, recent findings, and associated challenges. *Advances in Food and Nutrition Research*, 91, 227–273. <https://doi.org/10.1016/bs.afnr.2019.09.001>
- Kristinawati, A., Nikmatin, S., Irmansyah, Setyaningsih, D. (19–20 August 2019). *Extraction of citronella oil using an ohmic heating method*. IOP Conference Series: Earth and Environmental Science. West Java, Indonesia. 2019. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/460/1/012014>
- Termrittikul, P., Jittanit, W., Sirisansaneeyakul, S. (2018). The application of ohmic heating for inulin extraction from the wet-milled and drymilled powders of Jerusalem artichoke (*Helianthus tuberosus* L.) tuber. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 48, 99–110. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2018.05.022>
- Duygu, B., Ümit, G. (2015). Application of ohmic heating system in meat thawing. *Procedia – Social and Behavioral Sciences*, 195, 2822–2828. <https://doi.org/10.1016/j.sbspro.2015.06.400>
- Wongsa-Ngasri, P., Sastry, S. K. (2016). Tomato peeling by ohmic heating: Effects of lye-salt combinations and post-treatments on weight loss, peeling quality and firmness. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 34, 148–153. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2016.01.013>
- Wongsa-Ngasri, P., Sastry, S. K. (2016). Tomato peeling by ohmic heating with lye-salt combinations: Effects of operational parameters on peeling time and skin diffusivity. *Journal of Food Engineering*, 186, 10–16. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2016.04.005>
- Farahnaky, A., Azizi, R., Gavahian, M. (2012). Accelerated texture softening of some root vegetables by ohmic heating. *Journal of Food Engineering*, 113(2), 275–280. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2012>
- Makroo, H. A., Saxena, J., Rastogi, N. K., Srivastava, B. (2017). Ohmic heating assisted polyphenol oxidase inactivation of watermelon juice: Effects of the treatment on pH, lycopene, total phenolic content, and color of the juice. *Journal of Food Processing and Preservation*, 41(6), Article e13271. <https://doi.org/10.1111/jfpp.13271>
- Muhammad, A. I., Shitu, A., Tadda, M. A. (2019). Ohmic heating as alternative preservation technique – A review. *Arid Zone Journal of Engineering, Technology and Environment*, 15(2), 268–277.
- Vicente, A., de Castro, I., Teixeira, J. A., Machado, L. F. (2011). Ohmic heating treatment. Chapter in a book: Handbook of food safety engineering. Hoboken, NJ: Blackwell Publishing, 2011. <https://doi.org/10.1002/9781444355321.ch27>
- Cappato, L. P., Ferreira, M. V. S., Guimaraes, J. T., Portela, J. B., Costa, A. L. R., Freitas, M. Q. et al. (2017). Ohmic heating in dairy processing: Relevant aspects for safety and quality. *Trends in Food Science and Technology*, 62, 104–112. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2017.01.010>
- Silva, V. L. M., Santos, L. M. N. B. F., Silva, A. M. S. (2017). Ohmic heating: An emerging concept in organic synthesis. *Chemistry – A European Journal*, 23(33), 7853–7865. <https://doi.org/10.1002/chem.201700307>
- Hashemi, S. M. B., Roohi, R. (2019). Ohmic heating of blended citrus juice: Numerical modeling of process and bacterial inactivation kinetics. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 52, 313–324. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2019.01.012>
- Li, X., Xu, X., Wang, L., Regensteijn, J. M. (2019). Effect of ohmic heating on physicochemical properties and the key enzymes of water chestnut juice. *Journal of Food Processing and Preservation*, 43(4), Article e13919. <https://doi.org/10.1111/jfpp.13919>
- Darvishi, H., Hosainpour, A., Nargesi, F., Fadavi, A. (2015). Exergy and energy analyses of liquid food in an ohmic heating process: A case study of tomato production. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 31, 73–82. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2015.06.012>
- Khue, D. N., Tiep, H. T., Dat, L. Q., Kim Phung, L. T., Tam, L. N. (2020). Influence of frequency and temperature on the inactivation of salmonella enterica serovar enteritidis in ohmic heating of pomelo juice. *LWT*, 129, Article 109528. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.109528>
- Doan, N. K., Lai, Q. D., Le, T. K. P., Le, N. T. (2021). Influences of AC frequency and electric field strength on changes in bioactive compounds in ohmic heating of pomelo juice. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 72, Article 102754. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2021.102754>
- Shao, L., Liu, Y., Tian, X., Yu, Q., Wang, H., Li, X. et al. (2021). Inactivation and recovery of *Staphylococcus aureus* in milk, apple juice and broth treated with ohmic heating. *LWT*, 139, Article 110545. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.110545>
- Rodríguez, L. M. N., Arias, R., Soteras, T., Sancho, A., Pesquero, N., Rossetti, L. et al. (2021). Comparison of the quality attributes of carrot juice pasteurized by ohmic heating and conventional heat treatment. *LWT*, 145, Article 111255. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.111255>
- Kumar, T. (2020). Development of a laboratory scale ohmic heating system for pasteurization of grape juice. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 9(3), 235–238.
- Sudheer, K. P., Ashitha, G. N., Prince, M. V. (2020). Mild thermal processing of cashew apple juice using ohmic heating. *Journal of Tropical Agriculture*, 58(1), 44–52.
- Hardinasinta, G., Salengke, S., Mursalim, Muhidong, J. (7–9 October 2020). *Evaluation of ohmic heating for sterilization of berry-like fruit juice of mulberry (*Morus nigra*), bignay (*Antidesma bunius*), and jambolana (*Syzygium cumini*)*. IOP Conference Series: Materials Science and Engineering, Volume 1034, 2nd International Conference on Mechanical Engineering Research and Application (ICOMERA 2020), Malang, Indonesia, 2020. <https://doi.org/10.1088/1757-899x/1034/1/012050>

46. Brochier, B., Mercali, G. D., Marczak, L. D. F. (2018). Effect of ohmic heating parameters on peroxidase inactivation, phenolic compounds degradation and color changes of sugarcane juice. *Food and Bioprocess Processing*, 111, 62–71. <https://doi.org/10.1016/j.fbp.2018.07.003>
47. Darvishi, H., Mohammadi, P., Fadavi, A., Saba, M. K., Behroozi-Khazaei, N. (2019). Quality preservation of orange concentrate by using hybrid ohmic – Vacuum heating. *Food Chemistry*, 289, 292–298. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.05.045>
48. Ferreira, M. V. S., Cappato, L. P., Silva, R., Rocha, R. S., Guimarães, J. T., Balthazar, C. F. et al. (2019). Ohmic heating for processing of whey-raspberry flavored beverage. *Food Chemistry*, 297, Article 125018. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.12.5018>
49. Makroo, H. A., Prabhakar, P. K., Rastogi, N. K., Srivastava, B. (2019). Characterization of mango puree based on total soluble solids and acid content: Effect on physico-chemical, rheological, thermal and ohmic heating behavior. *LWT*, 103, 316–324. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2019.01.003>
50. Fadavi, A., Yousefi, S., Darvishi, H., Mirsaedghazi, H. (2018). Comparative study of ohmic vacuum, ohmic, and conventional-vacuum heating methods on the quality of tomato concentrate. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 47, 225–230. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2018.03.004>
51. Hwang, J. H., Jung, A. H., Park, S. H. (2022). Efficacy of ohmic vacuum concentration for orange juice concentrates and their physicochemical properties under different voltage gradients. *LWT*, 154, Article 112750. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.112750>
52. Sabanci, S., Icier, F. (2022). Evaluation of an ohmic assisted vacuum evaporation process for orange juice pulp. *Food and Bioprocess Processing*, 131, 156–163. <https://doi.org/10.1016/j.fbp.2021.09.009>
53. Sabanci, S., Çevik, M., Göksu, A. (2021). Investigation of time effect on pectin production from citrus wastes with ohmic heating assisted extraction process. *Journal of Food Process Engineering*, 44(6), Article e13689. <https://doi.org/10.1111/jfpe.13689>
54. Norouzi, S., Fadavi, A., Darvishi, H. (2021). The ohmic and conventional heating methods in concentration of sour cherry juice: Quality and engineering factors. *Journal of Food Engineering*, 291, Article 110242. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2020.110242>
55. Sabanci, S., Icier, F. (2021). Enhancement of the performance of sour cherry juice concentration process in vacuum evaporator by assisting Ohmic heating source. *Food and Bioprocess Processing*, 122, 269–279. <https://doi.org/10.1016/j.fbp.2020.05.004>
56. Darvishi, H., Behroozi-Khazaei, N., Saba, M. K., Alimohammadi, Z., Nourbakhsh, H. (2021). The influence of ohmic vacuum heating on phenol, ascorbic acid and engineering factors of kiwifruit juice concentration process. *International Journal of Food Science and Technology*, 56(9), 4789–4798. <https://doi.org/10.1111/IJFS.15160>
57. Çevik, M. (2021). Electrical conductivity and performance evaluation of verjuice concentration process using ohmic heating method. *Journal of Food Process Engineering*, 44(5), Article e13672. <https://doi.org/10.1111/jfpe.13672>
58. Barron-García, O. Y., Gaytán-Martínez, M., Ramírez-Jiménez, A. K., Luzardo-Ocampo, I., Velázquez, G., Morales-Sánchez, E. (2021). Physicochemical characterization and polyphenol oxidase inactivation of Ataulfo mango pulp pasteurized by conventional and ohmic heating processes. *LWT*, 143, Article 111113. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.111113>
59. Makroo, H. A., Rastogi, N. K., Srivastava, B. (2017). Enzyme inactivation of tomato juice by ohmic heating and its effects on physico-chemical characteristics of concentrated tomato paste. *Journal of Food Process Engineering*, 40(3), Article e12464. <https://doi.org/10.1111/jfpe.12464>
60. Brochier, B., Hertz, P. F., Marczak, L. D. F., Mercali, G. D. (2020). Influence of ohmic heating on commercial peroxidase and sugarcane juice peroxidase inactivation. *Journal of Food Engineering*, 284, Article 110066. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2020.110066>
61. Saxena, J., Makroo, H. A., Srivastava, B. (2016). Optimization of timeelectric field combination for PPO inactivation in sugarcane juice by ohmic heating and its shelf life assessment. *LWT – Food Science and Technology*, 71, 329–338. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2016.04.015>
62. Morales-Sánchez, E., Díaz-Cruz, A., Regalado, C., Velázquez, G., González-Jasso, E., Gaytán-Martínez, M. (2019). Inactivation of mango pectinmethylesterase by ohmic heating. *Revista Bio Ciencias*, 6, Article e665. <https://doi.org/10.15741/revbio.06.e665>
63. Jakob, A., Bryjak, J., Wojtowicz, H., Illeová, V., Annus, J., Polakovič, M. (2010). Inactivation kinetics of food enzymes during ohmic heating. *Food Chemistry*, 123(2), 369–376. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.04.047>
64. İcier, F., Yildiz, H., Baysal, T. (2008). Polyphenoloxidase deactivation kinetics during ohmic heating of grape juice. *Journal of Food Engineering*, 85(3), 410–417. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2007.08.002>
65. Kumar, V., Jain, S. K., Amitabh, A., Chavan, S. M. (2021). Effect of ohmic heating on physicochemical, bioactive compounds, and shelf life of watermelon flesh-rind drinks. *Journal of Food Process Engineering*, 45(7) Article e13818. <https://doi.org/10.1111/jfpe.13818>
66. Rodrigues, N. P., Brochier, B., de Medeiros, J. K., Marczak, L. D. F., Mercali, G. D. (2021). Phenolic profile of sugarcane juice: Effects of harvest season and processing by ohmic heating and ultrasound. *Food Chemistry*, 347, Article 129058. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.129058>
67. Khuenpet, K., Jittanit, W. (2020). The effects of pasteurization by conventional and ohmic heating methods and concentration processes on the Madan (Garcinia schomburgkiana Pierre) juice properties. *Applied Engineering in Agriculture*, 36(2), 205–219. <https://doi.org/10.13031/aea.13618>
68. Darvishi, H., Salami, P., Fadavi, A., Saba, M. K. (2020). Processing kinetics, quality and thermodynamic evaluation of mulberry juice concentration process using Ohmic heating. *Food and Bioprocess Processing*, 123, 102–110. <https://doi.org/10.1016/j.fbp.2020.06.003>
69. Doan, K. N., Lai, D. Q., Kim Le, P. T., Le, T. N. (2021). Inactivation of pectin methylesterase and Lactobacillus plantarum by ohmic heating in pomelo juice. *International Journal of Food Science and Technology*, 56(4), 1987–1995. <https://doi.org/10.1111/ijfs.14830>
70. Debbarma, T., Thangalakshmi, S., Tadakod, M., Singh, R., Singh, A. (2021). Comparative analysis of ohmic and conventional heat-treated carrot juice. *Journal of Food Processing and Preservation*, 45(9), Article e15687. <https://doi.org/10.1111/jfpp.15687>
71. Cho, W.-I., Kim, E.-J., Hwang, H.-J., Cha, Y.-H., Cheon, H. S., Choi, J.-B. et al. (2017). Continuous ohmic heating system for the pasteurization of fermented red pepper paste. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 42, 190–196. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2017.07.020>
72. Priyadarshini, A., Rayaguru, K., Nayak, P. K., Lenka, C. (2021). Efficiency of ohmic heating for microbial inactivation in mango (*Mangifera indica* L.) pulp. *International Journal of Pharmaceutical Research*, 13(1), 4460–4465. <https://doi.org/10.31838/ijpr.2021.13.01.592>
73. Sarkis, J. R., Jaeschke, D. P., Mercali, G. D., Tessaro, I. C., Marczak, L. D. F. (2019). Degradation kinetics of anthocyanins in blackberry pulp during ohmic and conventional heating. *International Food Research Journal*, 26(1), 87–97.
74. Darvishi, H., Saba, M. K., Behroozi-Khazaei, N., Nourbakhsh, H. (2020). Improving quality and quantity attributes of grape juice concentrate (molasses) using ohmic heating. *Journal of Food Science and Technology*, 57(4), 1362–1370. <https://doi.org/10.1007/s13197-01904170-1>
75. Junqua, R., Carullo, D., Ferrari, G., Pataro, G., Ghidossi, R. (2021). Ohmic heating for polyphenol extraction from grape berries: An innovative prefermentary process. *OENO One*, 55(3), 39–51. <https://doi.org/10.20870/oeno-one.2021.55.3.4647>
76. Kutlu, N., İsci, A., Sakiyan, O., Yilmaz, A. E. (2021). Effect of ohmic heating on ultrasound extraction of phenolic compounds from cornelian cherry (*Cornus mas*). *Journal of Food Processing and Preservation*, 45(10), Article e15818. <https://doi.org/10.1111/jfpp.15818>
77. Rinaldi, M., Littardi, P., Paciulli, M., Ganino, T., Cocconi, E., Barbanti, D. et al. (2020). Impact of ohmic heating and high pressure processing on qualitative attributes of ohmic treated peach cubes in syrup. *Foods*, 9(8), Article 1093. <https://doi.org/10.3390/foods9081093>
78. Sabanci, S., Çevik, M., Cokgezme, O. F., Yildiz, H., Icier, F. (2019). Quality characteristics of pomegranate juice concentrates produced by ohmic heating assisted vacuum evaporation. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 99(5), 2589–2595. <https://doi.org/10.1002/jsfa.9474>
79. Ghadiri, H., Ziaifar, A. M., Ghorbani, M., Aghazadeh, S. (2020). Use of Ohmic heating system in peeling tomato and its effect on physicochemical properties of the product. *Journal of Food Research*, 30(2), 57–68.
80. Priyadarshini, A., Rayaguru, K., Nayak, P. K. (2020). Influence of Ohmic heating on fruits and vegetables: A review. *Journal of Critical Reviews*, 7(19), 1952–1959.
81. Mannozi, C., Rompooonpol, K., Fauster, T., Tylewicz, U., Romani, S., Rosa, D. M. et al. (2019). Influence of pulsed electric field and fruit and vegetable juices. *Foods*, 8(7), Article 247. <https://doi.org/10.3390/foods8070247>
82. Rinaldi, M., Littardi, P., Ganino, T., Aldini, A., Rodolfi, M., Barbanti, D. et al. (2020). Comparison of physical, microstructural, antioxidant and enzymatic properties of pineapple cubes treated with conventional heating, ohmic heating and high-pressure processing. *LWT*, 134, Article 110207. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.110207>
83. Alkanan, Z. T., Al-Hilphy, A. R. S., Altemimi, A. B., Mandal, R., Pratap-Singh, A. (2021). Comparison of quality characteristics of tomato paste produced under ohmic-vacuum combination heating and conventional heating. *Applied Food Research*, 1(2), Article 100014. <https://doi.org/10.1016/j.afres.2021.100014>
84. Tunç, M. T., Akdoğan, A., Baltacı, C., Kaya, Z., Odabaş, H. İ. (2022). Production of grape pekmez by Ohmic heating-assisted vacuum evaporation. *Food Science and Technology International*, 28(1), 72–84. <https://doi.org/10.1177/1082013221991616>
85. Kanjanapongkul, K., Baibua, V. (2021). Effects of ohmic pasteurization of coconut water on polyphenol oxidase and peroxidase inactivation and pink discoloration prevention. *Journal of Food Engineering*, 292, Article 110268. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2020.110268>
86. Alkanan, Z. T., Altemimi, A. B., Al-Hilphy, A. R. S., Watson, D. G., Pratap-Singh, A. (2021). Ohmic heating in the food industry: Developments in concepts and applications during 2013–2020. *Applied Sciences (Switzerland)*, 11(6), Article 2507. <https://doi.org/10.3390/app11062507>
87. Cokgezme, O. F., Icier, F. (2019). Effect of voltage gradient on ohmic thawing characteristics of sour cherry juice concentrates for the temperature range of –18°C to +4°C. *Food Science and Technology International*, 25(8), 659–670. <https://doi.org/10.1177/1082013219857897>
88. Cao, X., Islam, M. N., Xu, W., Chen, J., Chitrakar, B., Jia, X. et al. (2020). Energy consumption, colour, texture, antioxidants, odours, and taste qualities of litchi fruit dried by intermittent ohmic heating. *Foods*, 9(4), Article 425. <https://doi.org/10.3390/foods9040425>
89. Poojitha, P., Athmaselvi, K. A. (2020). Effect of ohmic blanching on drying kinetics, physicochemical and functional properties of garlic powder. *Journal of Food Science and Technology*, 60, 845–855. <https://doi.org/10.1007/s13197-020-04676-z>
90. Kutlu, N. (2022). Optimization of ohmic heating-assisted osmotic dehydration as a pretreatment for microwave drying of quince. *Food Science and Technology International*, 28(1), 60–71. <https://doi.org/10.1177/1082013221991613>
91. Moreno, J., Simpson, R., Estrada, D., Lorenzen, S., Moraga, D., Almonacid, S. (2011). Effect of pulsed-vacuum and ohmic heating on the osmodehydration kinetics, physical properties and microstructure of apples (cv. Granny smith). *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 12(4), 562–568. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2011.06.011>
92. Moreno, J., Espinoza, C., Simpson, R., Petzold, G., Nuñez, H., Gianelli, M. P. (2016). Application of ohmic heating/vacuum impregnation treatments and air drying to develop an apple snack enriched in folic acid. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 33, 381–386. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2015.12.014>
93. Rinaldi, M., Langialonga, P., Dhenge, R., Aldini, A., Chiavaro, E. (2021). Quality traits of apple puree treated with conventional, ohmic heating and high-pressure processing. *European Food Research and Technology*, 247(7), 1679–1688. <https://doi.org/10.1007/s00217-021-03738-6>

94. Moreno, J., Gonzales, M., Zúñiga, P., Petzold, G., Mella, K., Muñoz, O. (2017). Ohmic heating and pulsed vacuum effect on dehydration processes and polyphenol component retention of osmodehydrated blueberries (cv. Tifblue). *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 36, 112–119. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2016.06.005>
95. Moreno, J., Simpson, R., Pizarro, N., Parada, K., Pinilla, N., Reyes, J. E. et al. (2012). Effect of ohmic heating and vacuum impregnation on the quality and microbial stability of osmotically dehydrated strawberries (cv. Camarosa). *Journal of Food Engineering*, 110(2), 310–316. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2011.03.005>
96. Kumar, A., Begum, A., Hoque, M., Hussain, S., Srivastava, B. (2021). Textural degradation, drying and rehydration behaviour of ohmically treated pineapple cubes. *LWT*, 142, Article 110988. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.110988>
97. Torshizi, M. V., Azadbakht, M., Kashaninejad, M. (2020). Application of response surface method to energy and exergy analyses of the ohmic heating dryer for sour orange juice. *Fuel*, 278, Article 118261. <https://doi.org/10.1016/j.fuel.2020.118261>
98. Fadavi, A., Salari, S. (2019). Ohmic heating of lemon and grapefruit juices under vacuum pressure — Comparison of electrical conductivity and heating rate. *Journal of Food Science*, 84(10), 2868–2875. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.14802>
99. Abedelmaksoud, T. G., Mohsen, S. M., Duedahl-Olesen, L., Elnikeety, M. M., Feyissa, A. H. (2019). Impact of ohmicsonication treatment on pectinmethylesterase in not-from-concentrate orange juice. *Journal of Food Science and Technology*, 56(8), 3951–3956. <https://doi.org/10.1007/s13197-019-03834-2>
100. Abedelmaksoud, T. G., Mohsen, S. M., Duedahl-Olesen, L., Elnikeety, M. M., Feyissa, A. H. (2019). Optimization of ohmicsonication for overall quality characteristics of NFC apple juice. *Journal of Food Processing and Preservation*, 43(9), Article e14087. <https://doi.org/10.1111/jfpp.14087>
101. Pereira, R. N., Coelho, M. I., Genisheva, Z., Fernandes, J. M., Vicente, A. A., Pintado, M. E. et al. (2020). Using Ohmic heating effect on grape skins as a pre-treatment for anthocyanins extraction. *Food and Bioproducts Processing*, 124, 320–328. <https://doi.org/10.1016/j.fbp.2020.09.009>
102. Wongsangasri, P., Sastry, S. K. (2015). Effect of ohmic heating on tomato peeling. *LWT*, 61(2), 269–274. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2014.12.053>
103. Indriarto, R., Rezaharsanto, B. (2020). A review on ohmic heating and its use in food. *International Journal of Scientific and Technology Research*, 9(2), 485–490.
104. Alkanan, Z. T., Al-Hilphy, A. R. S., Altemimi, A. B., Mandal, R., Pratap-Singh, A. (2021). Comparison of quality characteristics of tomato paste produced under ohmic-vacuum combination heating and conventional heating. *Applied Food Research*, 1(2), Article 100014. <https://doi.org/10.1016/j.AFRES.2021.100014>
105. Wang, R., Farid, M. M. (2015). Corrosion and health aspects in ohmic cooking of beef meat patties. *Journal of Food Engineering*, 146, 17–22. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2014.08.011>

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ	AUTHOR INFORMATION
<b>Принадлежность к организации</b>	<b>Affiliation</b>
<b>Бурак Леонид Чеславович</b> — кандидат технических наук, директор, Общество с ограниченной ответственностью «БЕЛПРОСАКВА» 220118, Республика Беларусь, Минск, ул. Шаранговича, 19, офис 718 Тел.: +375–29–646–65–25 E-mail: leonidburak@gmail.com ORCID: <a href="https://orcid.org/0000-0002-6613-439X">https://orcid.org/0000-0002-6613-439X</a> * автор для контактов	<b>Leonid Ch. Burak</b> , Candidate of Technical Sciences, Director, BELROSAKVA Limited Liability Company 19, Sharangovich str., Minsk, 220018 Republic of Belarus Tel.: +375–29–646–65–25 E-mail: leonidburak@gmail.com ORCID: <a href="https://orcid.org/0000-0002-6613-439X">https://orcid.org/0000-0002-6613-439X</a> * corresponding author
<b>Сапач Александр Николаевич</b> — инженер-химик, Общество с ограниченной ответственностью «БЕЛПРОСАКВА» 220118, Республика Беларусь, Минск, ул. Шаранговича, 19, офис 718 Тел.: +375–29–756–95–19 E-mail: aleksandr@belrosakva.by ORCID: <a href="https://orcid.org/0000-0002-8579-2689">https://orcid.org/0000-0002-8579-2689</a>	<b>Alexander N. Sapach</b> , Chemist, BELROSAKVA Limited Liability Company 19, Sharangovich str., Minsk, 220018 Republic of Belarus Tel.: +375–29–756–95–19 E-mail: aleksandr@belrosakva.by ORCID: <a href="https://orcid.org/0000-0002-8579-2689">https://orcid.org/0000-0002-8579-2689</a>
<b>Критерии авторства</b>	<b>Contribution</b>
<b>Бурак Л. Ч.</b> — концептуализация, разработка методологии исследования, научное руководство исследованием, проведение исследования, написание-рецензирование и редактирование рукописи <b>Сапач А. Н.</b> — научный поиск публикаций по теме, анализ результатов, формулирование выводов, написание статьи	<b>Leonid Ch. Burak</b> — conceptualization, development of research methodology, scientific supervision of the study, conduct of the study, writing and reviewing and manuscript editing <b>Alexander N. Sapach</b> — scientific search for publications on the topic, analysis of the results, formulation of conclusions, writing an article
<b>Конфликт интересов</b>	<b>Conflict of interest</b>
Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.	The authors declare no conflict of interest.



DOI: <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2024-7-1-71-76>



Received 30.11.2023

Accepted in revised 07.03.2024

Accepted for publication 11.03.2024

© Mohamed D. E., Alian A. M., Mohamed R. M., 2024

Available online at <https://www.fsjour.com/jour>

Original scientific article

Open access

## OPTIMIZATION OF PRODUCTION AND EVALUATION OF MICROBIAL KOJIC ACID OBTAINED FROM SUGARCANE MOLASSES (SCM) BY *ASPERGILLUS SP.*

Dalia E. Mohamed, Ahmed M. Alian, Reda M. Mohamed

Food Science Department, Faculty of Agriculture, Cairo University, Giza, Egypt

**KEY WORDS:**  
*kojic acid, agro-industrial wastes, fermentation, molasses, Aspergillus sp., antioxidant, antibacterial*

### ABSTRACT

Kojic acid (KA) is an organic acid that is generated by various fungi, particularly by *Aspergillus* species, as a secondary metabolite. The current study is aimed to determine the optimal conditions for the production of kojic acid from various fungal strains grown on agro-industrial wastes. After testing six fungal strains for their suitability for kojic acid production, *Aspergillus oryzae* (AUMC.64) and *Aspergillus tamari* (AUMC.43) were found to be the highest producers of KA. Three different agro-industrial wastes were screened as a fermentation media and sugar cane molasses showed the highest productivity for (KA). *Aspergillus oryzae* (AUMC.64), and *Aspergillus tamari* (AUMC.43) achieved the maximal production of kojic acid (25.91, 18.95±0.001 g. L<sup>-1</sup> respectively) from sugarcane molasses (SCM) under optimum conditions of growth (10% solution of sugarcane molasses, pH 4.0 and fermentation period of 10 days). Also, the antimicrobial activities of KA produced by *A. oryzae* AUMC64 and *A. tamari* AUMC43 against the selected test strains of microorganisms *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium* were recorded. The maximum growth inhibition zone (20–13.2 mm) was observed on the cultures of *Escherichia coli*. Meanwhile the antioxidant activities of KA produced by *A. oryzae* AUMC64 and *A. tamari* AUMC43 was 79.1 and 62.42%, respectively.

Поступила 30.11.2023

Поступила после рецензирования 07.03.2024

Принята в печать 11.03.2024

© Мохамед Д. Е., Алиан А. М., Мохамед Р. М., 2024

<https://www.fsjour.com/jour>

Научная статья

Open access

## ОПТИМИЗАЦИЯ ПРОИЗВОДСТВА И ОЦЕНКА МИКРОБНОЙ КОЙЕВОЙ КИСЛОТЫ, ПОЛУЧАЕМОЙ ИЗ ПАТОКИ САХАРНОГО ТРОСТНИКА (ПСТ) ПРИ ПОМОЩИ ГРИБКОВОЙ КУЛЬТУРЫ *ASPERGILLUS SP.*

Мохамед Д. Е., Алиан А. М., Мохамед Р. М.

Кафедра науки о питании, Сельскохозяйственный факультет, Каирский университет, Гиза, Египет

### КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: АННОТАЦИЯ

*койевая кислота, агропромышленные отходы, ферментация, патока, Aspergillus sp., антиоксидант, антибактериальный*

Койевая кислота (КК) представляет собой органическую кислоту, вырабатываемую различными грибами, в частности, видами *Aspergillus*, в качестве вторичного метаболита. Целью настоящего исследования является определение оптимальных условий получения койевой кислоты из различных штаммов грибов, выращенных на отходах агропромышленного комплекса. После тестирования шести штаммов грибов на предмет их пригодности для производства койевой кислоты было обнаружено, что *Aspergillus oryzae* (AUMC.64) и *Aspergillus tamari* (AUMC.43) являются самыми высокими продуцентами КК. В качестве среды для ферментации были испытаны три вида различных агропромышленных отходов, из них патока сахарного тростника показала самую высокую продуктивность по производству КК. Были получены культуры *Aspergillus oryzae* (AUMC.64) и *Aspergillus tamari* (AUMC.43), обеспечившие максимальный объем производства койевой кислоты (25,91, 18,95±0,001 г/л соответственно) из патоки сахарного тростника (ПСТ) в оптимальных условиях культивирования (10% раствор патоки сахарного тростника), pH патоки 4,0, период ферментации — 10 дней). Также была зафиксирована антимикробная активность КК, продуцируемых *A. oryzae* AUMC64 и *A. tamari* AUMC43, в отношении выбранных тест-штаммов микроорганизмов *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium*. Максимальная зона подавления роста (20–13,2 мм) наблюдалась на культурах *Escherichia coli*. При этом антиоксидантная активность КК, продуцируемого грибами *A. oryzae* AUMC64 и *A. tamari* AUMC43, составила 79,1 и 62,42% соответственно.

### 1. Introduction

Sugars, fibers, proteins, and minerals are the main ingredients of the goods of agricultural or animal origin that are produced by industrial processing. These agro-industrial wastes are mostly composed of lignocellulosic components, which include cellulose, hemicelluloses, and lignin [1]. Low-cost agro-industrial sources such as whey, sugarcane bagasse, maize steep liquor, wheat bran, soy bean meal, and others have been used in place of synthetic nitrogen and carbohydrate sources [2]. To make such wastes more palatable to microorganisms, they can undergo a range of physical, chemical, and enzymatic processing [3].

Organic acids can be manufactured industrially with the use of fermentative processes and variety of microorganisms. It is known that some *Aspergillus* fungi produce high concentrations of several organic acids, including citric acid, gluconic acid, and so on. However, some organic acids such as lactic acid, gibberellic acid, malic acid, and kojic acid are

formed in trace amounts [4]. These acids are very advantageous for scientific, medical, and economic applications. In 1907, Saito used steamed rice to produce *Aspergillus oryzae* and isolated the kojic acid from the mycelial mat. Eventually, the rice was referred to as Koji, and the phrase Kojic acid was first used in 1913 by a scientist by the name of Yabuta [5].

Numerous research had proposed using agro-industrial wastes or by-products for the fungal production of beneficial products, the waste or byproducts included cheese whey, sugar cane molasses, fruits, vegetables, and maize steep liquor [3,6].

Kojic acid (5-hydroxy-2-hydroxymethylgamma-pyrone, or KA) is a significant secondary metabolite that can be generated from carbohydrates using a variety of carbon and nitrogen sources [7]. Using agricultural wastes and aerobic fermentation techniques, this task can be accomplished. Kojic acid is produced by *Aspergillus* species that are predominantly found in the section of *flavi*, namely *Aspergillus flavus*, *Aspergillus oryzae*, *Aspergillus*

FOR CITATION: Mohamed, D. E., Alian, A. M., Mohamed, R. M. (2024). Optimization Production and Evaluation of Microbial kojic Acid from Sugarcane Molasses (SCM) by *Aspergillus sp.* *Food Systems*, 7(1), 71-76. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2024-7-1-71-76>

ДЛЯ ЦИТИРОВАНИЯ: Мохамед, Д. Е., Алиан, А. М., Мохамед, Р. М. (2024). Оптимизация производства и оценка микробной койевой кислоты, получаемой из патоки сахарного тростника (ПСТ) при помощи грибковой культуры *Aspergillus sp.* *Пищевые системы*, 7(1), 71-76. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2024-7-1-71-76>

*oryzae var effusus*, *Aspergillus tamari*, and *Aspergillus parasiticus*, in addition to *Penicillium* sp. and certain bacteria [3]. Kojic acid, which has a melting point within the range of 151–154 °C, crystallizes as colorless prismatic needles in water when cooled by centrifugation [8].

According to Rasmey and Abdel-Kareem [9], it is more soluble in water, ethanol, and ethyl acetate and less soluble in ether and chloroform. Kojic acid has a wide range of applications in chemistry, medicine, food and cosmetics, even though it has been on the market for 40 years, research on the microbial production and application of kojic acid is still ongoing. It also has antibacterial, anticoagulant and chelating properties [10]. The main objectives of this work were to identify the *Aspergillus* species that can manufacture kojic acid (KA) using glucose and agro-industrial waste media, as well as to optimize the conditions of kojic acid synthesis.

## 2. Materials and methods

### 2.1. Materials

#### 2.1.1. Microorganisms and chemicals

*Aspergillus oryzae* (AUMC.64), *Aspergillus tamari* (AUMC.43), *Aspergillus niger* (AUMC.42), *Aspergillus fumigatus* (AUMC.13602), *Aspergillus nidulans* (AUMC.13902), and *Aspergillus japonicas* (AUMC.14380) used in this work were obtained from Assiut University Moubasher Mycological Centre (AUMMC, Assiut, Egypt). Organisms were cultivated on potato dextrose agar slants (PDA) and kept at 4 °C.

The mold was inoculated on malt extract agar slants and incubated for five days at 30 °C in order to create spores. After incubation, the spores were taken out and re-injected into 50 ml of saline solution containing 0.1% of tween 80. The spores ( $5 \times 10^8$  spores per ml<sup>-1</sup>) were counted under a microscope, stored at 4 °C, and utilized as a stock inoculum. The chemicals were obtained from Sigma Chemical Company (St. Louis, Mo. USA).

#### 2.1.2. Screening medium and culture conditions

The medium for kojic acid production consists of: (g l<sup>-1</sup>) glucose, 100; yeast extract, 5; KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 1.5; and MgSO<sub>4</sub>, 0.5 combined at pH 4. 50 ml of the synthetic medium was added to 250 ml Erlenmeyer flasks, which were used to grow the experimental cultures. After being sterilized for 15 minutes at 121 °C, one milliliter of inoculum spore suspension ( $5 \times 10^8$  spores per ml<sup>-1</sup>) was added to the flasks after cooling. Then the cultures were incubated for ten days at 28 ± 2 °C.

#### 2.1.3. Agro-industrial wastes

Various samples of agro-industrial wastes sugarcane molasses (SCM) were purchased from Sugars and Integrated Industries Egyptian Distillation Plants in Hawamdeia city, Giza, Egypt. Unsalted cheese whey as a by-product precipitated from milk during the production of cheese samples was kindly provided by the Dairy Department, Faculty of Agricultural-Cairo University. Also, the potato washing water resulting from the manufacture of chips was used in the fermentation process.

## 2.2. Methods

### 2.2.1. Screening of *Aspergillus* sp. for kojic acid production

The ability of the following fungal strains to produce kojic acid from glucose as the only carbon source in a liquid synthetic medium under aerobic conditions was tested: *Aspergillus oryzae* (AUMC.64), *Aspergillus tamari* (AUMC.43), *Aspergillus niger* (AUMC.42), *Aspergillus fumigatus* (AUMC.13602), *Aspergillus nidulans* (AUMC.13902), and *Aspergillus japonicas* (AUMC.14380) were tested. Since glucose is the most basic sugar, it was utilized to screen for *Aspergillus* species that produce kojic acid [8].

### 2.2.2. Treatment of sugarcane molasses

Molasses from sugarcane was kept at 4 °C. To create treated molasses, the molasses was diluted 1:1 with distilled water, and concentrated sulfuric acid was added to bring the diluted molasses' pH to 4. After being heated to approximately 80 °C in a water bath for 1.5 hours, the molasses was centrifuged for 10 minutes at 4,000 rpm to precipitate the sludge while cooling. After filtering the treated molasses, the supernatant was moved to the fermentation flasks [11].

### 2.2.3. Screening of agro-industrial wastes for kojic acid production

Processed sugar cane molasses, whey, and potato water were used as fermentation media to produce kojic acid without adding any growth supplements. The previous media were sterilized at 121 °C for 15 minutes, followed by inoculation with tested *Aspergillus* strains and incubation at 28 ± 2 °C for 10 days. The ability of each experiment to yield kojic acid was evaluated [12].

### 2.2.4. Chemical composition of agro-industrial wastes

The chemical composition of agro-industrial wastes (sugarcane molasses, unsalted cheese whey, and potato water) were evaluated. Total

carbohydrates were determined by the phenol sulfuric acid method [13]. Reducing the content of sugar was determined by DNSA method Utekar et al. [14]. Protein was also estimated using the Bradford method [15].

### 2.2.5. Determination of kojic acid content

According to Bentley, the amount of formed kojic acid in the supernatant culture was measured using a colorimetric technique with ferric chloride (FeCl<sub>3</sub>) reagent. To prepare the reagent, one gram of FeCl<sub>3</sub>·6H<sub>2</sub>O was dissolved in 100 milliliters of 0.1 N HCl. The functional groups of the hydroxyl and pyrone rings in the samples react with the reagent to produce a deep red color. A spectrophotometer was used to measure the mixture's absorbance at 500 nm. The kojic acid standard curve was used to calculate the kojic acid equivalent [9].

### 2.2.6. Fast detection of kojic acid

Screening the kojic acid producer was done fast (qualitatively), and the fungal-grown PDA plates were covered with a ferric chloride solution. The appearance of a deep red color during this procedure indicates the presence of kojic acid produced by the strain [10].

### 2.2.7. Fourier-transform infrared spectroscopy (FTIR)

For the further detection of the presence of kojic acid in extracted crystals, a Fourier-transform infrared spectroscope (FTIR) was used. The samples were analyzed on a Nicolet 380 FTIR using the KBr disk technique. Resolution was 4, and 16 scans were accumulated for each spectrum in a range of 500–4000 cm<sup>-1</sup>, IR was used as a source and the detector is DTGS KBr. NICOLET 380 FT-IR, Thermo Scientific, made in China [16].

### 2.2.8. High performance liquid chromatography (HPLC)

To determine the KA content HPLC, Smart line, Knauer, Germany, was used, as well as a Kinetex XB-C18 Column (150 mm × 4.6 mm (Phenomenex®, USA)), operated at 40 °C. The injected volume was 20 µl in mobile phase of 0.1% acetic acid aqueous solution. Methanol 90:10 (v/v) Detection: VWD detector set at 270 nm was used. VWD: Variable Wavelength Detector [17].

### 2.2.9. Determination of dry weight

After the fermentation period ended, the biomass was recovered by filtering it through Whatman filter paper (No. 113), washed three times with distilled water, and dried for an entire night at 70 °C to determine its dry mass (DM) [18].

### 2.2.10. Optimization production conditions of kojic acid from sugarcane molasses

The study examined the effects of varying cultivating conditions on the biosynthesis of kojic acid, such as molasses concentration, initial pH value, and incubation period. Kojic acid was assayed to determine the impact of varying of the initial pH values (3.0, 4.0, 5.0, 6.0, and 7), varying molasses concentrations (3 to 10% with a 1% interval) and varying fermentation times (7 to 21 days) at the conclusion of each parameter [9].

### 2.2.11. Kojic acid extraction and crystallization

The process of extracting Kojic acid crystal involved filtering off the culture media using Wattman filter paper No. 1. The remaining solution was treated with ethyl acetate and refrigerated for 24 hours at 5 °C, causing the KA crystals to precipitate. The crystal was processed and dried at 80 °C for an hour the following day [10].

### 2.2.12. Determination of kojic acid antibacterial activity

Kojic acid's antimicrobial activity was assessed using the well diffusion assay. Every 24 hour test strains of microorganisms with  $1.0 \times 10^7$  CFU ml<sup>-1</sup> was spread plated in 0.1 ml volume on the plate count agar, PCA medium (Oxoid, England). Subsequently, 50 µl of Kojic acid was added to each well. The plates were then incubated for 24 hour at 37 °C, and the inhibition of test strains of microorganisms was measured as the inhibition zone in millimeters [19].

### 2.2.13. Determination of kojic acid antioxidant activity

The degree of KA antioxidant activity is its capacity to scavenge 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH). Radical scavenging (%) = [(A<sub>0</sub> - A<sub>1</sub>/A<sub>0</sub>) × 100] is the formula used by [20,21,22] to determine the percentage of radical scavenging activity. The absorbance of the sample extracts is A<sub>1</sub>, and the absorbance in the control sample is A<sub>0</sub> [23].

### 2.2.14. Statistical analysis

The XLSTAT software version 2014, 5.03 (Addinsoft, New York, NY, USA) was used to analyze the experimental results using analysis of variance (ANOVA) in three repeats. The results were expressed as the mean ± standard error of the mean. When calculating the significance of mean differences between samples, a p-value of less than 0.05 was deemed as significant.

### 3. Results and discussion

#### 3.1. Screening of *Aspergillus* sp. for kojic acid production

The ability of the *Aspergillus* species *A. oryzae*, *A. tamari*, *A. niger*, *A. fumigatus*, *A. nidulans*, and *A. japonicas*, to produce kojic acid was tested, and the results are recorded in the Table 1. The obtained results demonstrate that after ten days of cultivation, the various strains' abilities to produce kojic acid varied. The highest kojic acid production was recorded for *A. oryzae* AUMC64 (12.599 g. L<sup>-1</sup>) followed by *A. tamari* AUMC43 (7.003 g. L<sup>-1</sup>), *A. nidulans* AUMC13902 (1.527 g. L<sup>-1</sup>), *A. fumigatus* AUMC13602 (0.694 g. L<sup>-1</sup>), and *A. japonicas* AUMC14380 (0.276 g. L<sup>-1</sup>), while the lowest value was for *niger* AUMC42 (0.115 g. L<sup>-1</sup>). Therefore, *A. oryzae* AUMC64 and *A. tamari* AUMC43 were chosen for additional testing (Table 1). The results show a high correlation (r=0.97) between the two approaches when it comes to the relation between the qualitative and quantitative methods. These results are consistent with those of [9,11,24]. These variations in the biomass and kojic acid production can be attributed to species differences or culture conditions. *Aspergillus oryzae* was a great starting strain for the safe synthesis of kojic acid because it has been proven in several studies to have low pathogenicity and to not produce aflatoxins or any other carcinogenic metabolites. *Aspergillus* species can produce the amylase enzyme, which hydrolyses starch into simple sugars that can then be converted into kojic acid, according to research by [25]. The type of fermentable sugars present in the culture medium determines the amount of kojic acid being produced (g. L<sup>-1</sup>).

#### 3.2. Chemical composition of agro-industrial waste

The chemical composition of agro-industrial wastes (sugarcane molasses, unsalted cheese whey, and potato water) was evaluated. Total content of carbohydrates was determined, and the results were as follows: 56.01, 12, and 20% for molasses, whey, and potato water, respectively. Meanwhile, reduction sugar was found to be 24.90, 4, and 0.2% for molasses, whey, and potato water, respectively. Protein content was also estimated, and the results were as follows: 5, 2, and 0% for molasses, whey, and potato water, respectively.

#### 3.3. Screening of the agro-industrial waste for kojic acid production

Various samples of agro-industrial wastes (cheese whey, potato water, and sugarcane molasses) were tested as a carbon source for the growth of *A. oryzae*, and *A. tamari* and as a natural medium for kojic acid production. The results are shown in the Table 2. The results indicated that the highest productivity of kojic acid was obtained from SCM (14.28 g. L<sup>-1</sup>), followed by cheese whey and potato water (5.34 g. L<sup>-1</sup> and 0.55 g. L<sup>-1</sup>,

Table 1. Selection and screening of various *Aspergillus* sp. for kojic acid production

Таблица 1. Отбор и анализ различных видов *Aspergillus* sp., используемых для производства койевой кислоты

Strains	Kojic acid production (g. L <sup>-1</sup> )	Red zone (mm)
<i>Aspergillus nidulans</i> AUMC13902	1.527 <sup>c</sup> ± 0.03	3.47 <sup>c</sup> ± 0.06
<i>Aspergillus oryzae</i> AUMC64	12.599 <sup>a</sup> ± 0.06	4.97 <sup>a</sup> ± 0.05
<i>Aspergillus fumigatus</i> AUMC13602	0.694 <sup>d</sup> ± 0.02	2.13 <sup>d</sup> ± 0.05
<i>Aspergillus japonicas</i> AUMC14380	0.276 <sup>e</sup> ± 0.04	2.01 <sup>d</sup> ± 0.09
<i>Aspergillus niger</i> AUMC42	0.115 <sup>f</sup> ± 0.07	1.03 <sup>e</sup> ± 0.01
<i>Aspergillus tamari</i> AUMC43	7.003 <sup>b</sup> ± 0.04	4.07 <sup>b</sup> ± 0.06

The experimental values (means and SD for n=3) with small letter are significantly different (P ≤ 0.05).

Table 2. Screening of the agro-industrial waste for kojic acid production (g. L<sup>-1</sup>) by *A. oryzae* and *A. tamari*

Таблица 2. Анализ агропромышленных отходов, используемых для производства койевой кислоты (g. L<sup>-1</sup>) при помощи *A. oryzae* и *A. tamari*

Agro-industrial waste	<i>Aspergillus oryzae</i> AUMC64		<i>Aspergillus tamari</i> AUMC43	
	Kojic acid production (g. L <sup>-1</sup> )	Dry weight (g. L <sup>-1</sup> )	Kojic acid production (g. L <sup>-1</sup> )	Dry weight (g. L <sup>-1</sup> )
Synthetic media	12.59 <sup>b</sup> ± 0.01	41.9 <sup>b</sup> ± 0.07	7.01 <sup>b</sup> ± 0.06	38.3 <sup>b</sup> ± 0.31
Potato water	0.55 <sup>d</sup> ± 0.03	7.9 <sup>d</sup> ± 0.49	0.66 <sup>d</sup> ± 0.04	5.7 <sup>d</sup> ± 0.42
Cheese whey	5.34 <sup>c</sup> ± 0.02	24.9 <sup>c</sup> ± 0.34	4.93 <sup>c</sup> ± 0.03	25.0 <sup>c</sup> ± 0.40
Sugarcane molasses	14.28 <sup>a</sup> ± 0.04	52.7 <sup>a</sup> ± 0.36	9.61 <sup>a</sup> ± 0.06	50.3 <sup>a</sup> ± 0.86

The experimental values (means and SD for n=3) with small letter are significantly different (P ≤ 0.05).

respectively). These results were in harmony with those previously obtained by [3,11]. Egyptian SCM has detectable levels of several vitamins, including riboflavin and thiamin, and roughly 52% total sugar (glucose, sucrose, and fructose), as well as 0.46% total nitrogen. These substances may encourage the synthesis of kojic acid in each type of molasses [12].

#### 3.4. Optimization of kojic acid production in SCM media by *A. oryzae*, and *A. tamari*

##### 3.4.1. Effect of duration of fermentation period on kojic acid production

The effects of the duration of fermentation period on the production of kojic acid from SCM by *A. oryzae*, and *A. tamari* were investigated. The data presented in the Table 3 indicate that the production of kojic acid increased gradually along with the duration of the incubation period, reaching its maximum value (25.9 g. L<sup>-1</sup>) at 10 days before declining. These outcomes corroborated those previously attained by [12,26]. According to Rasmeey et al. [11], the mycelium's breakdown of kojic acid into oxalic and acetic acid when glucose levels are low may be the cause of the decrease in kojic acid that occurs with longer period of incubation.

##### 3.4.2. Effect of SCM concentrations on kojic acid production

The Table 4 presents the results of a test conducted to determine the effect of SCM concentrations in the medium on the production of kojic acid by *A. oryzae* and *A. tamari*. The outcome demonstrated that the production of kojic acid increased as molasses sugar concentrations rose, peaking at 10% sugar content and being produced by *A. oryzae*, and *A. tamari* (25.9–18.9 g. L<sup>-1</sup>). The production of the acid decreased as the concentration of sugar molasses (15–20–25%) was increased further. Fermentation rates decreased as a result of both decreased water activity and the beginning of plasmolysis. Elevating the initial concentration of sugar led to a noteworthy rise in residual sugar content, potentially resulting from the microorganisms' incapacity to metabolize elevated sugar levels. It was found that the osmotic pressure had a negative impact because the acid production abruptly stopped. These outcomes concurred with the preliminary findings of [11]. Once the fungal growth reached the stationary phase, the synthesis of kojic acid ceased when the certain concentration of medium's glucose was reached. According to studies by [25,26], the synthesis of kojic acid was impacted by an excessive concentration of carbon sources.

##### 3.4.3. Effect of pH on production of kojic acid

The Table 5 presents the results of a study conducted to examine the effect of the initial pH value in the molasses fermentation medium on the production of kojic acid from SCM by *A. oryzae*, and *A. tamari* The

Table 3. Effect of various fermentation periods on yield of kojic acid being produced from SCM by *A. oryzae*, and *A. tamari*

Таблица 3. Влияние различных периодов ферментации на объем койевой кислоты, получаемой из ПСТ при помощи *A. oryzae* и *A. tamari*

Days	<i>Aspergillus oryzae</i> AUMC64		<i>Aspergillus tamari</i> AUMC43	
	Kojic acid production (g. L <sup>-1</sup> )	Dry weight (g. L <sup>-1</sup> )	Kojic acid production (g. L <sup>-1</sup> )	Dry weight (g. L <sup>-1</sup> )
3	10.22 <sup>d</sup> ± 0.06	8.7 <sup>g</sup> ± 0.06	8.19 <sup>d</sup> ± 0.07	2.7 <sup>g</sup> ± 0.06
7	21.73 <sup>b</sup> ± 0.09	22.4 <sup>f</sup> ± 0.01	15.37 <sup>b</sup> ± 0.09	8.3 <sup>f</sup> ± 0.12
10	25.91 <sup>a</sup> ± 0.06	26.3 <sup>e</sup> ± 0.06	18.04 <sup>a</sup> ± 0.08	15.3 <sup>e</sup> ± 0.12
13	20.02 <sup>c</sup> ± 0.09	22.7 <sup>d</sup> ± 0.12	13.90 <sup>c</sup> ± 0.09	21.0 <sup>d</sup> ± 0.10
15	15.71 <sup>e</sup> ± 0.07	27.7 <sup>c</sup> ± 0.06	10.70 <sup>e</sup> ± 0.06	25.7 <sup>c</sup> ± 0.06
18	13.20 <sup>f</sup> ± 0.08	32.7 <sup>b</sup> ± 0.06	9.92 <sup>f</sup> ± 0.05	36.3 <sup>b</sup> ± 0.06
21	10.90 <sup>g</sup> ± 0.01	35.7 <sup>a</sup> ± 0.06	7.04 <sup>g</sup> ± 0.08	42.3 <sup>a</sup> ± 0.06

The experimental values (means and SD for n=3) with small letter are significantly different (P ≤ 0.05).

Table 4. Effect of various concentrations of sugarcane molasses on the yield of kojic acid being produced by *A. oryzae* and *A. tamari*

Таблица 4. Влияние различных концентраций патоки сахарного тростника на объем койевой кислоты, получаемой при помощи *A. oryzae* и *A. tamari*

SCM concentration% (V/V)	<i>Aspergillus oryzae</i> AUMC64		<i>Aspergillus tamari</i> AUMC43	
	Kojic acid production (g. L <sup>-1</sup> )	Dry weight (g. L <sup>-1</sup> )	Kojic acid production (g. L <sup>-1</sup> )	Dry weight (g. L <sup>-1</sup> )
5%	16.70 <sup>d</sup> ± 0.01	14.2 <sup>e</sup> ± 0.1	10.90 <sup>d</sup> ± 0.01	12.7 <sup>e</sup> ± 0.38
10%	25.90 <sup>a</sup> ± 0.05	26.3 <sup>d</sup> ± 0.12	18.91 <sup>a</sup> ± 0.07	23.7 <sup>d</sup> ± 0.21
15%	23.13 <sup>b</sup> ± 0.05	32.3 <sup>c</sup> ± 0.16	17.92 <sup>b</sup> ± 0.04	31.3 <sup>c</sup> ± 0.35
20%	17.59 <sup>c</sup> ± 0.06	45.3 <sup>b</sup> ± 0.25	12.58 <sup>c</sup> ± 0.05	44.0 <sup>b</sup> ± 0.26
25%	10.19 <sup>e</sup> ± 0.05	52.7 <sup>a</sup> ± 0.12	8.03 <sup>e</sup> ± 0.07	53.7 <sup>a</sup> ± 0.31

The experimental values (means and SD for n=3) with small letter are significantly different (P ≤ 0.05).

tested strains produced kojic acid at the best level at a pH of 4.0. Beyond pH 4.0, kojic acid production started to decline. Based on the initial pH of culture, the majority of research on how culture pH affects kojic acid production and growth was done. *A. oryzae*, and *A. tamari* are two examples of fungi that can produce kojic acid within the pH range of 3 to 7. High pH had a major impact on the metabolism of fungi. The fungus's metabolism shifted to other pathways rather than producing kojic acid. Thus, a high pH further decreased the yield of kojic acid [27]. At pH 4.0, *A. oryzae* and *A. tamari* demonstrated the highest yield of crystals of kojic acid. The growth of the fungus and the yield of kojic acid decreased as the pH of the culture medium increased [10]. According to [9], the structure and function of enzymes were influenced by the pH of the culture medium because the enzymes are proteins with ionizable groups. Determining the perfect pH is crucial because it has a significant impact on the best way to produce the enzymes needed to obtain kojic acid.

**3.5. Production of kojic acid in optimal conditions**

According to this study, 10% concentration of SCM provided the best conditions for the fermentation of *A. oryzae* AUMC64 and *A. tamari* AUMC43, which produce kojic acid. In perfect environmental conditions, the pH and incubation period were 4.0 and 10 days, respectively. These outcomes are exactly the same as those noted by multiple researchers [9,10,12,27].

**3.6. Extraction and characterization of produced kojic acid**

The process of extracting kojic acid crystals involved filtering culture media using Wattman filter paper No. 1. As previously mentioned, the left mycelial mass was also weighted according to the procedures to determine wet and dry weight. After being treated with ethyl acetate, the remaining solution was kept in a refrigerator at 5 °C for a full day. The following day, crystals of KA were visible at the beaker's bottom. To obtain such crystals, filtration was done, and they were then oven dried for one hour at 80 °C [10].

**Table 5. Effect of various initial pH values on production of kojic acid from SCM by *A. Oryzae* and *A. tamari***

Таблица 5. Влияние различных начальных значений pH на объем койевой кислоты, получаемой из ПСТ при помощи *A. oryzae* и *A. tamari*

pH	<i>Aspergillus oryzae</i> AUMC64		<i>Aspergillus tamari</i> AUMC43	
	Kojic acid production (g. L <sup>-1</sup> )	Dry weight (g. L <sup>-1</sup> )	Kojic acid production (g. L <sup>-1</sup> )	Dry weight (g. L <sup>-1</sup> )
3	19.65 <sup>c</sup> ±0.05	15.7 <sup>b</sup> ±0.04	14.30 <sup>c</sup> ±0.04	16.0 <sup>b</sup> ±0.30
4	25.91 <sup>a</sup> ±0.05	26.8 <sup>a</sup> ±0.25	18.95 <sup>a</sup> ±0.09	23.7 <sup>a</sup> ±0.50
5	21.65 <sup>b</sup> ±0.06	15.6 <sup>b</sup> ±0.05	15.91 <sup>b</sup> ±0.08	17.3 <sup>b</sup> ±0.15
6	18.12 <sup>d</sup> ±0.07	11.5 <sup>c</sup> ±0.31	11.21 <sup>d</sup> ±0.01	13.3 <sup>c</sup> ±0.15
7	15.04 <sup>e</sup> ±0.05	7.9 <sup>d</sup> ±0.26	8.31 <sup>e</sup> ±0.06	8.3 <sup>d</sup> ±0.06

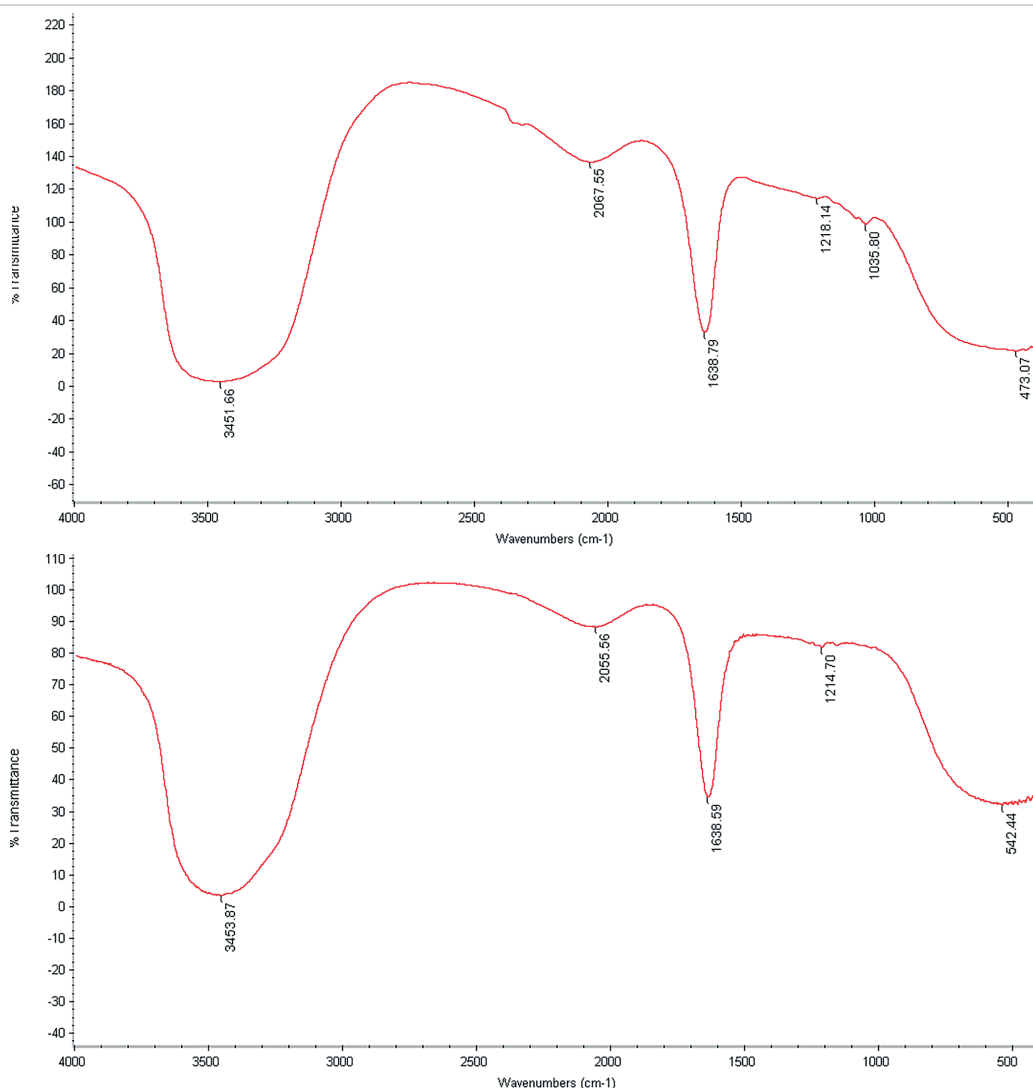
The experimental values (means and SD for n=3) with small letter are significantly different (P ≤ 0.05).

**3.6.1. Infrared spectroscopy via Fourier-transform infrared spectroscopy (FTIR)**

The sample of kojic acid's FTIR spectrum displays peak wave number values peculiar for the functional groups that are comparable to those of regular kojic acid (Figure 1). Functional groups 3270.8 cm<sup>-1</sup>, 3179.43 cm<sup>-1</sup> (OH), 2925.17 cm<sup>-1</sup>, 2854.05 cm<sup>-1</sup> (aliphatic-CH), 1660.59 cm<sup>-1</sup> (cyclic-C=O), 1611.11 cm<sup>-1</sup> (C=C), 1472.61 cm<sup>-1</sup> (deformation of-CH<sub>2</sub>), 1074.04 cm<sup>-1</sup> (cyclic C-O-C), 943.58 cm<sup>-1</sup>, 863.66 cm<sup>-1</sup>, and 775.65 cm<sup>-1</sup> (1, 4 α -disubstituted ring) are among the functional groups where the bands are present [17].

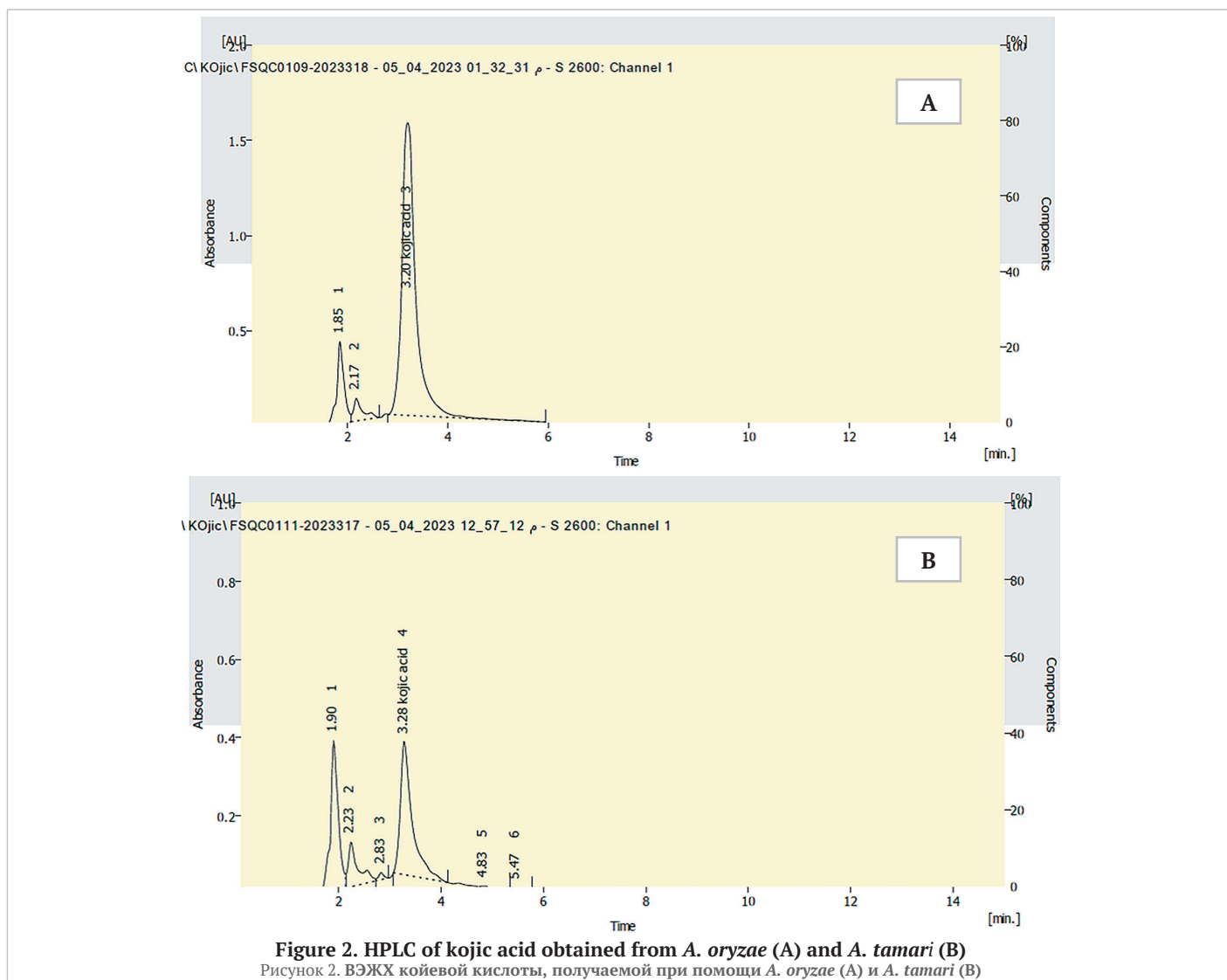
**3.6.2. High performance liquid chromatography (HPLC)**

The compound with the same retention time as the standard kojic acid was found among the best HPLC results for *A. oryzae* (Figure 2). All the experimental analysis (HPLC and FTIR) indicated that kojic acid was produced by both fungus [10].



**Figure 1. Peak wave number values of FTIR for standard kojic acid**

Рисунок 1. Значения пиковых волновых чисел по ИК-Фурье спектроскопии у стандартной койевой кислоты



**3.6.3. Antibacterial activity of kojic acid**

The antimicrobial activities of KA produced by *A. oryzae* AUMC64 and *A. tamari* AUMC43 against the selected test strains of microorganisms (*Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Escherichia coli*, and *Salmonella typhimurium*) was investigated. Our results are presented in the Table 6. The maximum zone of inhibition (20–13.2 mm) was observed with the cultures, *Escherichia coli* and *Salmonella typhimurium*, followed by *Staphylococcus aureus* and *Bacillus cereus* (9.6–8.3 mm) for KA produced by *A. oryzae* AUMC64. Such a result indicates that these organisms were highly sensitive to antimicrobial compounds and kojic acid. These results agreed with those previously obtained by [5,19].

Table 6. Antibacterial activities of kojic acid produced by *A. oryzae* and *A. tamari*

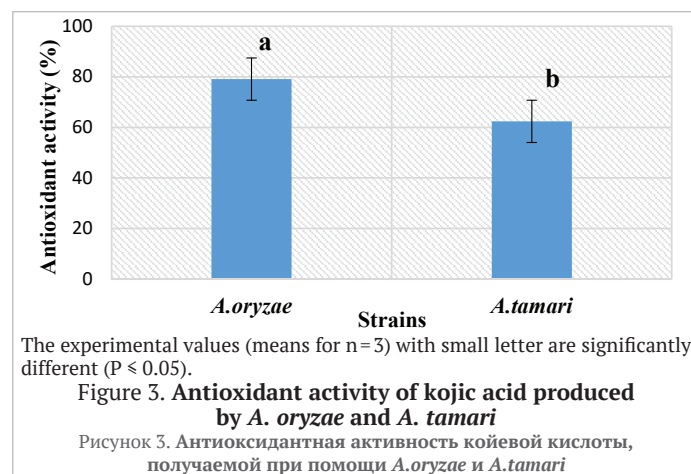
Таблица 6. Антибактериальная активность койевой кислоты, получаемой при помощи *A.oryzae* и *A. tamari*

Test strains of microorganisms	Kojic acid concentration (mg/ml)			Inhibition zone (mm)		
				<i>A. tamari</i>		
	0.5	1	2	0.5	1	2
<i>S. aureus</i>	2.5	6.6	9.6	1.6	4.5	7.1
<i>B. cereus</i>	1.8	6.1	8.3	1.1	3.8	6.4
<i>E. coli</i>	4.2	8.4	20	2.5	5.7	13.2
<i>Sal. typhimurium</i>	3.2	7.3	11.1	1.9	5.1	7.6

**3.6.4. Antioxidant activity of kojic acid**

The antioxidant activity of KA produced by two fungal strains was tested by their scavenging effect on DPPH radicals under cultural conditions, and the results are recorded in the Figure 3. The results indicated that the antioxidant activity of KA extract produced by *A. oryzae* AUMC64 and *A. tamari* AUMC43 was 79.1 and 62.42%, respectively. These results indicate that the antioxidant percentage is correlated with amounts of KA

in the culture medium. KA is a good chelator of transitional metal ions and a good scavenger of the free radical DPPH. Moreover, KA has potential activity in depigmentation processes through chelating the copper ion present in the active site of tyrosinase, which mediates the formation of melanin from the amino acid tyrosine [28]. The potential antioxidant activity of KA approves the benefits of its application in the food industry, where it has been used in the post-harvest process as an anti-speck and an anti-browning agent for the agricultural products [29].



**4. Conclusion**

During the study of the possibility of utilizing some agro-industrial wastes to produce microbial kojic acid using both *A. oryzae* and *A. tamari*, the results demonstrated the possibility of using SCM as a fermentation

medium and obtaining high level of kojic acid production compared to the synthetic medium. Fermentation conditions were also controlled to maximize the productivity. Some properties of kojic acid were studied, such as its effect as an antioxidant and antibacterial substance, and the

results positively proved its ability to do this. In the future, we can continue to study the possibility of using waste for fermentation producing biological compounds and running works to reduce the pollution resulting from these wastes on the path to sustainable development.

## REFERENCES

- Mussatto, S.I, Ballesteros, L.F, Martins, S.F, Teixeira, J.A. (2012). Use of agro-industrial wastes in solid state fermentation processes. Chapter in a book: Industrial waste. InTech Open Access Publisher, 2012. <http://doi.org/10.5772/36310>
- Fatima, B, Hussain, Z, Khan, M.A. (2014). Utilization of agroindustrial waste residues for the production of amylase from *Aspergillus oryzae* IIB-62014. *British Biotechnology Journal*, 4(4), 350–365. <http://doi.org/10.9754/BBJ/2014/7915>
- Zohri, A. A.-N., Mahmoud, G. A.-E., Saddek, N. H., Hanafy, R. A. (2018). Optimization of kojic acid production conditions from cane molasses using plackett – burman design. *European Journal of Biological Research*, 8, 56–69. <http://doi.org/10.5281/zenodo.1211517>
- de Caldas Felipe, M. T., do Nascimento Barbosa, R., Bezerra, J. D. P., de Souza-Motta, C. M. (2023). Production of kojic acid by *Aspergillus* species: Trends and applications. *Fungal Biology Reviews*, 45, Article 100313. <https://doi.org/10.1016/j.fbr.2023.100313>
- Devi, K. B. D., Vijayalakshmi, P., Shilpa, V., Kumar, B. V. (2015). Optimization of cultural parameters for cost effective production of kojic acid by fungal species isolated from soil. *Microbiology Research Journal International*, 7(5), 255–268. <https://doi.org/10.9734/BMRJ/2015/15325>
- Khamaruddin, N.R., Basri, M., Lian, G.E.C. (2008). Enzymatic synthesis and characterization of palm-based kojic acid ester. *Journal of Oil Palm Research*, 20, 461–469.
- Li, C., Ji, X., Li, J., Wu, D., Qi, L., Wang, A. et al. (2022). Measurement and correlation of the solubility of kojic acid in pure and binary solvents. *The Journal of Chemical Thermodynamics*, 167, Article 106712. <https://doi.org/10.1016/j.jct.2021.106712>
- Chib, S., Jamwal, V. L., Kumar, V., Gandhi, S. G., Saran, S. (2023). Fungal production of kojic acid and its industrial applications. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 107(7–8), 2111–2130. <https://doi.org/10.1007/s00253-023-12451-1>
- Rasmeay, A.-H. M., Abdel-Kareem, M. (2021). Optimization of culture conditions for Kojic acid production in surface fermentation by *Aspergillus oryzae* isolated from wheat grains. *Bulletin of Pharmaceutical Sciences Assiut*, 44(1), 201–211.
- Chib, S., Dogra, A., Nandi, U., Saran, S. (2019). Consistent production of kojic acid from *Aspergillus sojae* SSC-3 isolated from rice husk. *Molecular Biology Reports*, 46, 5995–6002. <https://doi.org/10.1007/s11033-019-05035-8>
- Rasmeay, A.-H. M., Basha, A.H. (2016). Isolation and screening of kojic acid producing isolate of *Aspergillus oryzae* potentially applicable for production from sugarcane molasses. *International Journal of Biological Research*, 4(2), Article 119. <http://doi.org/10.14419/ijbr.v4i2.6434>
- El-Kady, I. A., Zohri, A. N. A., Hamed, S. R. (2014). Kojic acid production from agro-industrial by-products using fungi. *Biotechnology Research International*, 2014, Article 642385. <https://doi.org/10.1155%2F2014%2F642385>
- Mansfield, S. D. (2020). Determination of Total Carbohydrates. Chapter in a book: Methods to Study Litter Decomposition: A Practical Guide. Springer Cham, 2020. [https://doi.org/10.1007/978-3-030-30515-4\\_14](https://doi.org/10.1007/978-3-030-30515-4_14)
- Utekar, P. G., Kininge, M. M., Gogate, P.R. (2021). Intensification of delignification and enzymatic hydrolysis of orange peel waste using ultrasound for enhanced fermentable sugar production. *Chemical Engineering and Processing-Process Intensification*, 168, Article 108556. <http://doi.org/10.1016/j.ccep.2021.108556>
- Rekowski, A., Langenkämper, G., Dier, M., Wimmer, M. A., Scherf, K. A., Zörb, C. (2021). Determination of soluble wheat protein fractions using the Bradford assay. *Cereal Chemistry*, 98(5), 1059–1065. <http://doi.org/10.1002/cche.10447>
- Käppler, A., Fischer, D., Oberbeckmann, S., Schernewski, G., Labrenz, M., Eichhorn, K.-J. et al. (2016). Analysis of environmental microplastics by vibrational microspectroscopy: FTIR, Raman or both? *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 408, 8377–8391. <https://doi.org/10.1007/s00216-016-9956-3>
- Chib, S., Jamwal, V. L., Kumar, V., Gandhi, S. G., Saran, S. (2023). Fungal production of kojic acid and its industrial applications. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 107(7–8), 2111–2130. <https://doi.org/10.1007/s00253-023-12451-1>
- Quiterio-Gutiérrez, T., González-Morales, S., González-Fuentes, J. A., Benavides-Mendoza, A., Fernández-Luqueño, F., Medrano-Macías, J. et al. (2023). Production of kojic acid by *aspergillus niger* m4 with different concentrations of yeast extract as a nitrogen source. *Processes*, 11(6), Article 1724. <http://doi.org/10.3390/pr11061724>
- Khodabandlou, S., Saraei, M. (2021). Synthesis of novel isoxazole derivatives bearing kojic acid moiety and evaluation of their antimicrobial activity. *Chemistry of Heterocyclic Compounds*, 57, 823–827. <https://doi.org/10.1007/s10593-021-02986-4>
- Elmastas, M., Isildak, O., Türkel, I., Temur, N. (2007). Determination of antioxidant activity and antioxidant compounds in wild edible mushrooms. *Journal of Food Composition and Analysis*, 20(3–4), 337–345. <http://doi.org/10.1016/j.jfca.2006.07.003>
- Ali, M.R., Mohamed, R. M., Abdelmaksoud, T. G. (2021). Functional strawberry and red beetroot jelly candies rich in fibers and phenolic compounds. *Food Systems*, 4(2), 82–88. <https://doi.org/10.21325/2618-9771-2021-4-1-82-88>
- Wang, Y.-X., Wang, S.-Y., Beta, T., Shahriar, M., Laborda, P., Herrera-Balandrano, D. D. (2023). Kojic acid induces resistance against *Colletotrichum brevisporum* and enhances antioxidant properties of postharvest papaya. *Food Control*, 144, Article 109405. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2022.109405>
- Wang, R., Hu, X., Agyekumwaa, A. K., Li, X., Xiao, X., Yu, Y. (2021). Synergistic effect of kojic acid and tea polyphenols on bacterial inhibition and quality maintenance of refrigerated sea bass (*Lateolabrax japonicus*) filets. *LWT*, 137, Article 110452. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.110452>
- Abd El-Aziz, A. B. (2013). Improvement of kojic acid production by a mutant strain of *Aspergillus flavus*. *Journal of Natural Sciences Research*, 3(4), 31–41.
- Rosfarizan, M., Ariff, A.B. (2000). Kinetics of kojic acid fermentation by *Aspergillus flavus* using different types and concentrations of carbon and nitrogen sources. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, 25(1), 20–24. <http://doi.org/10.1038/sj.jim.7000017>
- El-Aasar, S.A. (2006). Cultural conditions studies on kojic acid production by *Aspergillus parasiticus*. *International Journal of Agriculture and Biology*, 8(4), 468–473.
- Mohamad, R., Mohamed, M. S., Suhaili, N., Salleh, M. M., Ariff, A.B. (2010). Kojic acid: Applications and development of fermentation process for production. *Biotechnology and Molecular Biology Reviews*, 5(2), 24–37.
- Gonzalez, M. L., Correa, M. A., Chorilli, M. (2013). Skin delivery of kojic acid-loaded anotechnology-based drug delivery systems for the treatment of skin aging. *BioMed Research International*, 2013, Article 271276. <https://doi.org/10.1155/2013/271276>
- Chaudhary, J., Pathak, A.N., Lakhawat, S. (2014). Production technology and applications of Kojic acid. *Annual Research and Review in Biology*, 4(21), 3165–3196. <https://doi.org/10.9734/ARRB/2014/10643>

AUTHOR INFORMATION	СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ
<b>Affiliation</b>	<b>Принадлежность к организации</b>
<b>Dalia E. Mohamed</b> , Teaching Assistant, Department of Food Science, Faculty of Agriculture, Cairo University 1 Gamaa Street, 12613, Giza, Egypt Tel.: +2-0102-273-63-22 E mail: Dalia.header@agr.cu.edu.eg ORCID: <a href="https://orcid.org/0009-0004-3487-8759">https://orcid.org/0009-0004-3487-8759</a>	<b>Мохамед Д. Е.</b> — ассистент преподавателя, кафедра науки о питании, сельскохозяйственный факультет, Каирский Университет 12613, Египет, Гиза, ул. Гамаа, 1 Тел.: +2-0102-273-63-22 E mail: Dalia.header@agr.cu.edu.eg ORCID: <a href="https://orcid.org/0009-0004-3487-8759">https://orcid.org/0009-0004-3487-8759</a>
<b>Ahmed M. Alian</b> , Professor, Department of Food Science, Faculty of Agriculture, Cairo University 1 Gamaa Street, 12613, Giza, Egypt Tel.: +2-0122-362-31-40 E mail: dr.alian@hotmail.com ORCID: <a href="https://orcid.org/0009-0003-1846-5375">https://orcid.org/0009-0003-1846-5375</a>	<b>Алиан А. М.</b> — профессор, кафедра науки о питании, сельскохозяйственный факультет, Каирский Университет 12613, Египет, Гиза, ул. Гамаа, 1 Тел.: +2-0122-362-31-40 E mail: dr.alian@hotmail.com ORCID: <a href="https://orcid.org/0009-0003-1846-5375">https://orcid.org/0009-0003-1846-5375</a>
<b>Reda M. Mohamed</b> , Associate Professor, Department of Food Science, Faculty of Agriculture, Cairo University 1 Gamaa Street, 12613, Giza, Egypt Tel.: +2-0115-659-47-47 E mail: reda_karrim@agr.cu.edu.eg ORCID: <a href="https://orcid.org/0000-0001-5817-9187">https://orcid.org/0000-0001-5817-9187</a>	<b>Мохамед Р. М.</b> — адъюнкт-профессор, кафедра науки о питании, сельскохозяйственный факультет, Каирский Университет 12613, Египет, Гиза, ул. Гамаа, 1 Тел.: +2-0115-659-47-47 E mail: reda_karrim@agr.cu.edu.eg ORCID: <a href="https://orcid.org/0000-0001-5817-9187">https://orcid.org/0000-0001-5817-9187</a>
<b>Contribution</b>	<b>Критерии авторства</b>
Authors equally relevant to the writing of the manuscript, and equally responsible for plagiarism.	Авторы в равных долях имеют отношение к написанию рукописи и одинаково несут ответственность за плагиат.
<b>Conflict of interest</b>	<b>Конфликт интересов</b>
The authors declare no conflict of interest.	Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

DOI: <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2024-7-1-77-83>



Поступила 19.10.2023

Поступила после рецензирования 10.03.2024

Принята в печать 14.03.2024

© Серба Е. М., Крючкова Е. Р., Римарева Л. В., Оверченко М. Б., Игнатова Н. И., Павленко С. В., 2024

<https://www.fsjour.com/jour>

Научная статья

Open access

## ИССЛЕДОВАНИЕ ПРОЦЕССОВ МЕТАБОЛИЗМА СПИРТОВЫХ ДРОЖЖЕЙ ПРИ СБРАЖИВАНИИ ГРЕЧИШНО-КУКУРУЗНОГО СУСЛА

Серба Е. М.,\* Крючкова Е. Р., Римарева Л. В., Оверченко М. Б., Игнатова Н. И., Павленко С. В.

Всероссийский научно-исследовательский институт пищевой биотехнологии — филиал  
Федерального государственного бюджетного учреждения науки Федерального исследовательского центра  
питания, биотехнологии и безопасности пищи, Москва, Россия

### КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: АННОТАЦИЯ

гречиха,  
ферментация,  
дрожжи, этанол,  
метаболиты,  
зерновые дистилляты

Для расширения ассортимента конкурентоспособных спиртных напитков, обладающих оригинальными органолептическими свойствами, перспективны исследования о применении в технологиях зерновых дистиллятов новых видов растительного сырья. Цель данной работы состояла в установлении влияния особенностей состава зернового сусла, приготовленного с совместным использованием альтернативного сырьевого источника — гречихи и широко применяемой в спиртовом производстве кукурузы, на процессы метаболизма дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* 985-T и спиртового брожения. Объектами исследования служили следующие продукты и вещества: зерно гречихи и кукурузы; ферментные препараты — источники амилаз, ксиланазы,  $\beta$ -глюканазы и протеаз; образцы зернового сусла, бражки и отгонов бражки. Обоснована перспективность введения в технологию оригинальных спиртных напитков смешанных зерновых сред, приготовленных с использованием нетрадиционного гречишно-кукурузного сырья. Показано, что применение гречихи в качестве источника биополюченного белка, незаменимых аминокислот и минеральных веществ совместно с кукурузой, содержащей высокий уровень крахмала и малое количество некрахмальных полисахаридов, способствовало как увеличению выхода спирта, так и изменению количественного содержания вторичных метаболитов в составе летучих примесей. Установлено, что повышение концентрации в сусле растворимых углеводов и снижение его вязкости на 15,5–40,3% происходили за счет включения в состав зерновой смеси кукурузы, а обогащение сусла ассимилируемым дрожжами азотом на 19,0–41,8% в результате добавления гречихи. Подобрано оптимальное соотношение кукурузы и гречихи в составе зерновой смеси (7:3), позволившее улучшить биохимические и технологические показатели зернового сусла, повысить эффективность процессов жизнедеятельности дрожжей и спиртового брожения, обеспечить повышение выхода спирта на 1,8%, сократить образование побочных метаболитов, особенно высших спиртов, и изменить их состав в сторону увеличения доли альдегидов и эфиров. Всё перечисленное может оказывать положительное влияние на органолептические показатели дистиллята.

ФИНАНСИРОВАНИЕ: Работа проведена за счет средств субсидии на выполнение государственного задания (тема № FGMF-2022-0006).

Received 19.10.2023

Accepted in revised 10.03.2024

Accepted for publication 14.03.2024

© Serba E. M., Kryuchkova E. R., Rimareva L. V., Overchenko M. B., Ignatova N. I., Pavlenko S. V., 2024

Available online at <https://www.fsjour.com/jour>

Original scientific article

Open access

## INVESTIGATION OF METABOLIC PROCESSES OF ALCOHOL YEAST DURING THE FERMENTATION OF BUCKWHEAT-CORN WORT

Elena M. Serba,\* Elizaveta R. Kryuchkova, Lyubov V. Rimareva, Marina B. Overchenko,  
Nadezhda I. Ignatova, Svetlana V. Pavlenko

Russian Research Institute of Food Biotechnology — branch of the Federal State Budgetary Institution  
of Science of the Federal Research Center for Nutrition, Biotechnology and Food Safety, Moscow, Russia

### KEY WORDS:

buckwheat,  
fermentation, yeast,  
ethanol, metabolites,  
grain distillates

### ABSTRACT

To expand the range of competitive alcoholic beverages with original organoleptic properties, it is promising to study the use of new types of plant raw materials in grain distillate technologies. The purpose of this work was to establish the influence of the characteristics of the composition of grain wort prepared with the joint use of an alternative raw material source — buckwheat and corn, which is widely used in alcohol production, on the metabolic processes of the yeast *Saccharomyces cerevisiae* 985-T and alcoholic fermentation. The objects of the study were buckwheat and corn; enzyme preparations — sources of amylases, xylanases,  $\beta$ -glucanases and proteases; samples of grain wort, mash and mash distillates. The prospects of introducing mixed grain media prepared using non-traditional buckwheat raw materials into the technology of original alcoholic beverages are substantiated. It was shown that the use of buckwheat as a source of biocomplete protein, essential amino acids and minerals together with corn containing a high level of starch and a low level of non-starch polysaccharides contributed both to an increase in the yield of alcohol and a change in the quantitative content of secondary metabolites in the composition of volatile impurities. It was found that an increase in the concentration of soluble carbohydrates in the wort and a decrease in its viscosity by 15.5–40.3% occurred due to the inclusion of corn in the composition of the grain mixture, and the enrichment of the wort with nitrogen assimilated by yeast by 19.0–41.8% — as a result adding buckwheat. The optimal ratio of corn and buckwheat in the composition of the grain mixture (7:3) was selected, which made it possible to improve the biochemical and technological parameters of grain must, increase the efficiency of the vital processes of yeast and alcoholic fermentation, ensure an increase in the yield of alcohol by 1.8%, reduce the formation of side metabolites, especially higher alcohols, and change their composition in the direction of increasing the proportion of aldehydes and esters, which can have a positive effect on the organoleptic characteristics of the distillate.

FUNDING: The work was carried out at the expense of a subsidy for the implementation of the state task (subject No. FGMF-2022-0006).

ДЛЯ ЦИТИРОВАНИЯ: Серба, Е. М., Крючкова, Е. Р., Римарева, Л. В., Оверченко, М. Б., Игнатова, Н. И., Павленко, С. В. (2024). Исследование процессов метаболизма спиртовых дрожжей при сбраживании гречишно-кукурузного сусла. *Пищевые системы*, 7(1), 77-83. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2024-7-1-77-83>

FOR CITATION: Serba, E. M., Kryuchkova, E. R., Rimareva, L. V., Overchenko, M. B., Ignatova, N. I., Pavlenko, S. V. (2024). Investigation of metabolic processes of alcohol yeast during the fermentation of buckwheat-corn wort. *Food Systems*, 7(1), 77-83. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2024-7-1-77-83>

## 1. Введение

В последние годы активно проводятся исследования биотехнологического потенциала растительных культур местной селекции с целью научного обоснования перспективности их использования в технологиях производства конкурентоспособных спиртных напитков, обладающих оригинальными органолептическими свойствами [1,2,3]. Особенно это направление исследований актуально для производства наиболее популярной в настоящее время продукции — спиртных дистиллятов, качество которых зависит прежде всего от качества и состава сырья и от степени биокаталитической конверсии его полимеров при получении суслу, а также от биосинтетической способности используемой расы дрожжей и от аппаратно-технологических особенностей процесса дистилляции [1,3,4]. Возможность применения новых видов растительного сырья как альтернативы традиционным зерновым культурам (пшеница, рожь, кукуруза, ячмень) зависит от состава технологически значимых компонентов, а также от биохимических и органолептических характеристик сырья, влияющих на вкус и аромат зерновых дистиллятов и обеспечивающих эффективную конверсию углеводов в этанол [5,6].

Результаты проведенных в последнее время исследований показали, что к таким видам сырья относятся тритикале (амфидиплоид ржи и пшеницы) [7], сахарное сорго (зерно и сироп зеленой массы) [8] и топинамбур (земляная груша) [9,10]. Эти растительные культуры достаточно широко распространены в различных регионах Российской Федерации, обладают хорошей устойчивостью к условиям выращивания и высокой продуктивностью. Их использование позволяет подготовить суслу с требуемыми показателями качества, обеспечивающими высокий выход спирта.

Известны также разработки российских исследователей, направленные на применение возвратных отходов хлебопекарной промышленности в качестве альтернативного сырья для производства дистиллятов [11,12]. Полученные авторами результаты комплексных исследований трансформации исходного биохимического состава этого сырья по стадиям производства показали возможность на этапе дистилляции целенаправленно регулировать состав и концентрацию летучих компонентов, определяющих физико-химические и органолептические характеристики конечного продукта.

Однако остаются недостаточно изученными вопросы подбора перспективных видов нетрадиционных растительных культур, в состав которых входят ароматобразующие и биологически ценные компоненты, способствующие получению оригинальных алкогольных напитков из натурального отечественного сырья. Приведенные в публикациях данные показывают, что определенный интерес для производителей бродильной продукции в этом аспекте представляет гречиха (*Fagopyrum esculentum Moench*) [13,14,15]. Гречиха, как и все традиционно применяемые в производстве спиртных напитков зерновые культуры, содержит крахмал — полимер, состоящий из глюкозы, конверсируемой дрожжами в этанол [14,16,17]. По количеству крахмала зерно гречихи практически приравнивается к пшенице и ржи, но несколько уступает кукурузе.

Белок гречихи отличается низким содержанием глютена и в основном представлен альбуминовыми и глобулиновыми фракциями, доля которых составляет порядка 60–70%; данное вещество обладает более высокой биологической ценностью за счет повышенного количества незаменимых аминокислот (триптофана, изолейцина, лизина, метионина и цистина), необходимых для жизнедеятельности дрожжей [14,16,18]. В отличие от злаковых культур, гречиха является более богатым источником антиоксидантов и витаминов, особенно рутина, тиамина, рибофлавина и ниацина, а также минеральных веществ (магния, меди, фосфора, марганца, железа) [14,16,19]. Использование гречихи в пищевой промышленности позволяет не только получать безглютеновую продукцию, но и придавать ей функциональные свойства [18,19,20]. Обнаруженное в гречихе высокое содержание флавоноидов, обладающих антиоксидантными, капилляроукрепляющими, гепатопротекторными и антимикробными свойствами, определяет перспективность ее применения в качестве источника биологически активных веществ (БАВ) [21,22]. При этом авторы отмечают, что функционально-технологические свойства гречневой муки находятся в корреляционной зависимости от срока созревания зерна, а наиболее высокий уровень содержания БАВ приходится на период молочно-восковой спелости [23].

В работах ряда авторов, посвященных исследованиям возможности применения гречихи в бродильных производствах, показано, что полная и даже частичная замена традиционного сырья в производстве пива [15,16], кваса [24], ферментированного солода [16] и оригинальных напитков [14,17,25] позволяет не только получать

целевую продукцию хорошего качества, но и придавать ей новые функциональные свойства и приятные сенсорные характеристики. Авторы отмечают, что использование ферментированной гречихи в качестве компонента питательных сред для культивирования дрожжей и пробиотических бактерий имеет ряд положительных аспектов, таких как более высокое содержание незаменимых аминокислот, полифенолов и других БАВ, способствующих ускорению роста микроорганизмов и повышению интенсивности биосинтетических процессов [6,17,26].

Анализ результатов исследований гречихи, в состав которой входят наряду с основными углеводными и белковыми полимерами ароматические и биологически ценные компоненты, подтверждает перспективу ее применения для получения оригинальных спиртных напитков. Особенно важную роль в этом процессе, по-видимому, будут играть полифенолы, присутствующие в гречихе и способные даже в малых концентрациях влиять на вкус и аромат напитков [6]. При этом остаются неизученными вопросы о способах рационального использования этой перспективной растительной культуры в производстве дистиллятов, а также о методах подготовки сырья для получения зернового суслу с качественными биохимическими и реологическими показателями, обеспечивающими его эффективную конверсию в этанол и в другие ароматобразующие метаболиты.

Как показали результаты последних исследований, в гречишном дистилляте, по сравнению с дистиллятами из традиционного зернового сырья, отмечался более низкий уровень содержания побочных летучих веществ, сопутствующих синтезу этанола, в основном за счет высших спиртов [17]. Установлено, что в составе метаболитов повышалась доля альдегидов и эфиров, которые могут оказывать влияние на появление оригинальных оттенков и тонов в аромате и вкусе дистиллятов. Однако такой важный показатель, как выход спирта, был существенно ниже, что, по-видимому, связано с высоким содержанием в гречихе некрахмальных полисахаридов, особенно клетчатки [14,16,17]. Повышение дозировки ферментов ксиланазного и  $\beta$ -глюканазного действия оказало положительное влияние на реологические и технологические свойства гречишного суслу: вязкость снизилась в 2,3 раза, повысилось содержание растворимых углеводов (на 15,3%) и аминного азота (на 9,0%), но достигнуть нормативных показателей выхода целевого продукта — этанола — не удалось [17]. Особенности состава гречишного суслу требуют дальнейшей разработки специальных подходов и биотехнологических методов его переработки, так как основной целью применения нетрадиционного сырья в спиртовом производстве является не только получение дистиллята со специфическими органолептическими свойствами, но и достижение нормативного уровня выхода спирта с единицы крахмала перерабатываемого сырья.

По-видимому, одним из перспективных путей применения гречихи при приготовлении зернового суслу является совместное ее использование с традиционной зерновой культурой, например, с кукурузой. Известно, что кукуруза отличается более высоким содержанием крахмала и более низким — клетчатки и гемицеллюлозы, а гречиха превосходит кукурузу по количеству белка в зерне [17]. При этом белки гречихи в основном представлены фракциями альбуминов и глобулинов, а белки кукурузы — фракциями проламинов и глютелинов [13,14,16]. Количество аминокислот, содержащих серу, в частности пролина, в кукурузе несколько выше, чем в гречихе, при этом в ее составе ограничено содержание незаменимых аминокислот, особенно триптофана, лизина и метионина [14]. По сравнению с гречихой кукуруза содержит меньше минеральных соединений. В этой связи введение гречихи в состав среды с кукурузой позволит сбалансировать биохимический состав зернового суслу по основным макро- и микро-веществам, необходимым для обеспечения жизнедеятельности дрожжевых клеток. Поэтому дальнейшие исследования о применении нетрадиционного сырья гречихи в спиртовом производстве должны быть направлены не только на получение дистиллята со специфическими органолептическими свойствами, обусловленными особенностями биохимического состава сырья и продуктами метаболизма дрожжей *S. cerevisiae*, но и на обоснование возможности применения гречихи в технологиях зерновых дистиллятов, в которых одним из ключевых факторов является показатель выхода спирта.

Цель данных исследований состояла в изучении процессов метаболизма дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* расы 985-Т и спиртового брожения при культивировании их на средах, приготовленных с совместным использованием альтернативного сырьевого источника — гречихи и широко применяемой в спиртовом производстве кукурузы.



## 2. Объекты и методы

Объектами исследований служили следующие составляющие: зерно гречихи и кукурузы, измельченные до размера частиц 40–120 мкм при помощи мультифункциональной дробилки «Вилитек VLM-6» (ООО «Вилитек», Россия); ферментные препараты (ФП): источники термостабильной  $\alpha$ -амилазы — «Неозим АА 180» (Hunan Hong Ying Xiang Biochemistry Industry Co., LTD, КНР), глюкоамилазы — «Биозим 800L» (Shandong Longda Bio-products Co, КНР), ксиланазы и  $\beta$ -глюканазы — «Висколаза 150L» (Shandong Longda Bio-products Co., LTD, КНР) и протеазы — «Протоферм FP» (Shandong Longda Bio-products Co., LTD, КНР); дрожжи *Saccharomyces cerevisiae* расы 985-T (с термотолерантными и осмофильными свойствами) для сбраживания зернового суслу [17].

**Определение активности ферментов** проводили согласно существующим методикам [17]. За единицу амилолитической активности (АС) принимали такое количество фермента, которое катализирует гидролиз 1 г растворимого крахмала до декстринов различной молекулярной массы в стандартных условиях (30 °С, pH 6,0, 10 мин); за единицу глюкоамилазной активности (ГЛС) принимали количество фермента, катализирующего гидролиз крахмала при 30 °С и pH 4,7 с высвобождением за 1 мин 1 мкмоль глюкозы; за единицу ксиланазной активности (КС) принимали количество фермента, действующего на ксилан из березы с высвобождением 1 мкмоль восстанавливающих сахаров (в глюкозном эквиваленте), которые образуются за 1 мин в стандартных условиях (50 °С и pH 5,0); за единицу общей протеолитической активности (ПС) принимали такое количество фермента, которое за 1 мин при температуре 30 °С, pH 5,3 приводит гемоглобин в не осаждаемое ТХУ состояние в количестве, соответствующем 1 мкмоль тирозина.

**Приготовление зернового суслу** проводили по схеме ферментативно-гидролитической обработки зерна в колбах Эрленмейера объемом 750 см<sup>3</sup>, содержащих измельченное зерно и воду, помещенных в водяную баню ПЭ-4300 («Экрос», Россия). В водно-зерновую суспензию (гидромодуль 1:3) добавляли термостабильную  $\alpha$ -амилазу и выдерживали при температуре 40–60 °С в течение 30 мин. Дальнейшее приготовление замеса осуществляли при температуре 85–90 °С в течение 120 мин при периодическом перемешивании [17]. Далее содержимое колб охлаждали до 58–60 °С и инкубировали в присутствии ферментов в течение 60 мин. Для получения зернового суслу осахаривание крахмала и гидролиз некрахмальных полисахаридов осуществляли ФП: источниками глюкоамилазы и гемицеллюлаз (ксилааназы и  $\beta$ -глюканазы). Для гидролиза белковых веществ использовали ФП, содержащий комплекс грибных протеаз.

**Процесс биокаталитической конверсии** углеводных и белковых полимеров в зерновом сусле тестировали по содержанию общих и редуцирующих веществ (РВ) колориметрическим методом, а также по уровню образования аминного азота методом йодометрического титрования [27,28]. Вязкость подготовленного к сбраживанию суслу измеряли на вискозиметре SV-10 (Япония). Растворимые сухие вещества (РСВ) суслу фиксировали на рефрактометре Rochet PAL-S (ATAGO, Япония). Значение pH суслу измеряли на pH-метре/иономере (Mettler-Toledo SevenCompact™, Швейцария).

**Процесс сбраживания суслу**, приготовленного с использованием смеси кукурузы и гречихи в различных соотношениях, проводили в одинаковых анаэробных условиях: при температуре 30 °С длительностью 70 ч. Для сбраживания применяли водную суспензию клеток дрожжей *S. cerevisiae* 985-T, которую вносили в зерновое суслу из расчета 10 млн клеток/см<sup>3</sup> суслу.

**Состав и содержание летучих метаболитов**, синтезируемых дрожжами, тестировали с использованием газового хроматографа

Таблица 2. Характеристика зернового суслу, приготовленного с использованием кукурузы и гречихи

Table 2. Characterization of grain wort prepared with the use of corn and buckwheat

Состав зерна в сусле, %	Содержание крахмала в сырье %	Показатели зернового суслу					
		pH	РСВ, %	РВ, %	ОРВ, %	Аминный азот, мг %	Вязкость, мПа·сек
Гречиха — 100	54,5 ± 1,6 <sup>a</sup>	6,18	19,8 ± 0,9 <sup>a</sup>	15,8 ± 0,7 <sup>a</sup>	20,5 ± 0,6 <sup>a</sup>	59,7 ± 2,8 <sup>a</sup>	28,3 ± 1,3
Гречиха — 70 Кукуруза — 30	57,7 ± 2,3 <sup>ab</sup>	6,10	20,4 ± 0,9 <sup>ab</sup>	16,5 ± 0,7 <sup>ab</sup>	20,9 ± 0,4 <sup>a</sup>	54,3 ± 2,6 <sup>ab</sup>	23,9 ± 1,1 <sup>a</sup>
Гречиха — 50 Кукуруза — 50	59,5 ± 1,5 <sup>ab</sup>	6,03	21,2 ± 1,0 <sup>ab</sup>	16,7 ± 0,7 <sup>ab</sup>	21,3 ± 0,8 <sup>a</sup>	51,1 ± 2,4 <sup>b</sup>	21,8 ± 1,2 <sup>a</sup>
Гречиха — 30 Кукуруза — 70	61,9 ± 2,2 <sup>bc</sup>	6,04	22,4 ± 1,0 <sup>b</sup>	17,3 ± 0,8 <sup>b</sup>	21,8 ± 0,5 <sup>a</sup>	45,6 ± 1,9	16,9 ± 0,8
Кукуруза — 100	65,0 ± 2,0 <sup>c</sup>	5,80	22,5 ± 1,0 <sup>b</sup>	17,5 ± 0,8 <sup>b</sup>	22,0 ± 0,9 <sup>a</sup>	38,3 ± 1,8	15,3 ± 0,7

Примечание: значения представлены в виде средних ± стандартное отклонение. Различие значений в каждом столбце, обозначенных одинаковыми буквенными индексами, статистически не значимо при  $p < 0,05$ .

серии HP Agilent 6890 (США) [29]. Концентрацию этанола в бражке определяли на анализаторе относительной плотности спирта Densimat-Alcomat 2 (Gibertini, Италия).

**Статистическую обработку новых экспериментальных данных**, полученных не менее чем в трех повторностях, осуществляли методом однофакторного дисперсионного анализа с апостериорным анализом по критерию Тьюки при  $p < 0,05$  с использованием программы Statistica 6.0.

## 3. Результаты и обсуждение

Сравнительные исследования процессов генерации дрожжей и спиртового брожения проводили на средах, приготовленных с совместным использованием альтернативного сырьевого источника — гречихи и широко применяемой в спиртовом производстве кукурузы в различных соотношениях.

Как показали результаты ранее проведенных исследований [17], для приготовления кукурузного и гречишного суслу с концентрацией растворимых сухих веществ (РСВ) порядка 20% были использованы ферментные препараты (ФП) амилолитического, ксиланазного,  $\beta$ -глюканазного и протеолитического действий в дозировках, указанных в Таблице 1.

Таблица 1. Характеристика и дозировка ферментных препаратов по уровню активности основных ферментов

Table 1. Characterization and doses of enzyme preparations by the activity level of the main enzymes

Наименование ФП	Основной фермент	Активность, ед./см <sup>3</sup>	Дозировка ФП
Неозим АА 180	Термостабильная $\alpha$ -амилаза (АС)	1805,0 ± 85,2	0,6 ед. АС/г крахмала
Биозим 800L	Глюкоамилаза (ГЛС)	13203,0 ± 632,0	10,0 ед. ГЛС/г крахмала
Висколаза 150L	Ксиланаз (КС) $\beta$ -глюканаз (β-ГКС)	6100,0 ± 294,3 1050,0 ± 52,5	0,6 ед. КС/сырья 0,1 ед. β-ГКС/г сырья
Протоферм FP	Протеазы (ПС)	820,0 ± 39,2	0,3 ед. ПС/г сырья

Примечание: значения представлены в виде средних ± стандартное отклонение.

В Таблице 2 представлены экспериментальные данные по биохимическому составу и реологическим показателям зернового суслу, приготовленного с использованием смеси кукурузы и гречихи в различных соотношениях. Введение гречихи в состав зерновой смеси позволило повысить содержание аминного азота на 19,0–41,8% в зависимости от ее долевого содержания, а использование кукурузы способствовало увеличению количества общих (ОРВ) и растворимых (РВ) редуцирующих углеводов, а также снижению вязкости суслу на 15,5–40,3% (Таблица 2).

Дальнейшие исследования показали, что качество зернового суслу, приготовленного с использованием различных зерновых композиций, сказалось на процессах генерации дрожжей и спиртового брожения (Рисунок 2, Таблица 3). Наиболее высокая концентрация дрожжевых клеток (159 млн/см<sup>3</sup>) отмечена через 24 ч при сбраживании суслу, приготовленного полностью из гречишного сырья; по мере сокращения доли гречихи в составе суслу их количество снижалось. При этом на гречишном сусле уже к 12 ч количество клеток достигло 125 млн/см<sup>3</sup>, в то время как на кукурузном сусле — только

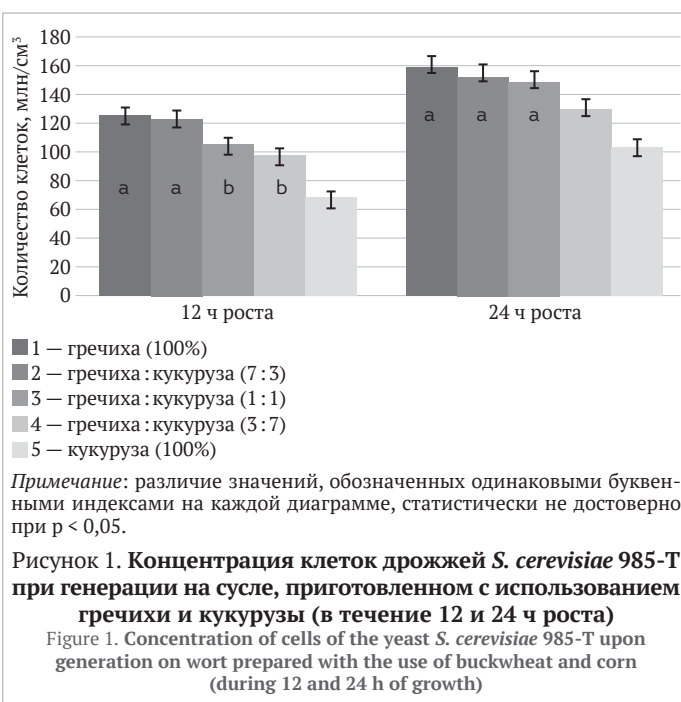
69 млн/см<sup>3</sup> (Рисунок 1). По-видимому, целесообразно проводить генерацию дрожжевых клеток на гречишном сусле, содержащем наиболее высокое количество легко усвояемого аминного азота (59,7 мг%).

Анализ процесса генерации дрожжей подтвердил, что наличие в гречихе биологически полноценного белка и других биологически активных компонентов способствовало интенсификации развития дрожжей *S. cerevisiae*; даже на среде, в составе которой содержание гречихи составило только 30% от объема зерновой смеси, количество клеток увеличилось на 25% (Рисунок 1).

Показано, что повышение концентрации в сусле растворимых углеводов и снижение его вязкости за счет включения в состав зерновой смеси кукурузы способствовали эффективному сбраживанию и увеличению концентрации этанола в бражке. Установлено, что при сбраживании сусла, в составе которого доля гречихи составляла 30% от общего содержания сырья, были достигнуты практически такие же показатели бражки, как и при сбраживании кукурузного сусла. При этом выход спирта составил 66,3 см<sup>3</sup>/100 г крахмала, что превысило на 1,8% показатели в контрольном варианте по сбраживанию гречишного сусла (Таблица 3).

Как известно, летучие компоненты, образующиеся в дистиллятах, влияют на качество спиртных напитков, формируя их вкус и аромат [29,30]. Поэтому интересно было установить, какое влияние оказывает используемое нетрадиционное сырье, в частности гречиха, содержащая достаточно высокое количество флавоноидов, на синтез побочных метаболитов дрожжами *S. cerevisiae* 985-Т (Таблица 4).

В результате исследований выявлено, что использование гречихи привело к снижению уровня образования побочных метаболитов на



Примечание: различие значений, обозначенных одинаковыми буквенными индексами на каждой диаграмме, статистически не достоверно при  $p < 0,05$ .

Рисунок 1. Концентрация клеток дрожжей *S. cerevisiae* 985-Т при генерации на сусле, приготовленном с использованием гречихи и кукурузы (в течение 12 и 24 ч роста)  
 Figure 1. Concentration of cells of the yeast *S. cerevisiae* 985-T upon generation on wort prepared with the use of buckwheat and corn (during 12 and 24 h of growth)

Таблица 3. Технохимические показатели бражки  
 Table 3. Technochemical indicators of mash

Состав зерна в сусле, %	Показатели зерновой бражки на 70 ч брожения					Выход спирта, см <sup>3</sup> /100 г условного крахмала
	pH	PВ, %	ОРВ, %	СО <sub>2</sub> , г	Спирт, % об.	
Гречиха — 100	4,95	0,40 ± 0,02 <sup>a</sup>	0,45 ± 0,02 <sup>a</sup>	13,1 ± 0,52	9,95 ± 0,20 <sup>a</sup>	65,1 ± 0,39 <sup>a</sup>
Гречиха — 70 Кукуруза — 30	4,86	0,39 ± 0,02 <sup>a</sup>	0,43 ± 0,02 <sup>a</sup>	14,9 ± 0,60 <sup>b</sup>	10,50 ± 0,26 <sup>ab</sup>	65,3 ± 0,52 <sup>ab</sup>
Гречиха — 50 Кукуруза — 50	4,78	0,37 ± 0,01 <sup>b</sup>	0,41 ± 0,02 <sup>b</sup>	16,3 ± 0,65 <sup>bc</sup>	11,10 ± 0,32 <sup>b</sup>	65,9 ± 0,32 <sup>ab</sup>
Гречиха — 30 Кукуруза — 70	4,62	0,30 ± 0,01 <sup>b</sup>	0,34 ± 0,01 <sup>b</sup>	16,8 ± 0,67 <sup>c</sup>	11,90 ± 0,18 <sup>c</sup>	66,3 ± 0,46 <sup>b</sup>
Кукуруза — 100	4,32	0,29 ± 0,01 <sup>b</sup>	0,34 ± 0,01 <sup>b</sup>	16,9 ± 0,70 <sup>c</sup>	12,10 ± 0,30 <sup>c</sup>	66,4 ± 0,37 <sup>b</sup>

Примечание: значения представлены в виде средних ± стандартное отклонение. Различие значений в каждом столбце, обозначенных одинаковыми буквенными индексами, статистически не значимо при  $p < 0,05$ .

Таблица 4. Образование летучих метаболитов дрожжами *S. cerevisiae* 985-Т в зависимости от содержания гречихи в составе сбраживаемого сусла

Table 4. Production of volatile metabolites by the yeast *S. cerevisiae* 985-T depending on the buckwheat content in the composition of fermented wort

Сопутствующие метаболиты	Концентрация метаболитов в отгонах бражки, мг/дм <sup>3</sup>				
	Содержание гречихи в составе зернового сырья сусла, %				
	100	70	50	30	0
ацетальдегид	80,13 ± 3,20	72,37 ± 2,17	65,10 ± 2,28	59,09 ± 2,95	32,20 ± 1,22
ацетон	1,12 ± 0,04	1,56 ± 0,07	2,09 ± 0,10 <sup>a</sup>	2,10 ± 0,11 <sup>a</sup>	2,10 ± 0,11 <sup>a</sup>
этилацетат	74,80 ± 3,30 <sup>a</sup>	71,54 ± 3,52 <sup>ab</sup>	66,20 ± 3,28 <sup>bc</sup>	62,51 ± 2,64 <sup>c</sup>	53,00 ± 2,10
метанол, % об.	0,003 ± 0,0001 <sup>a</sup>	0,004 ± 0,0001	0,003 ± 0,0001 <sup>a</sup>	0,003 ± 0,0001 <sup>a</sup>	0,003 ± 0,0001 <sup>a</sup>
2-пропанол	0,26 ± 0,012 <sup>a</sup>	0,25 ± 0,012 <sup>a</sup>	0,15 ± 0,007 <sup>b</sup>	0,22 ± 0,009	0,16 ± 0,006 <sup>b</sup>
изобутилацетат	0,15 ± 0,006 <sup>a</sup>	0,16 ± 0,005 <sup>a</sup>	0,26 ± 0,009	0,29 ± 0,011 <sup>b</sup>	0,29 ± 0,012 <sup>b</sup>
1-пропанол	58,15 ± 1,74 <sup>a</sup>	69,92 ± 2,10 <sup>b</sup>	86,77 ± 3,56	67,46 ± 3,2 <sup>b</sup>	56,20 ± 2,26 <sup>a</sup>
изобутанол	92,10 ± 4,24 <sup>a</sup>	95,60 ± 4,30 <sup>ab</sup>	97,25 ± 4,67 <sup>ab</sup>	101,20 ± 4,45 <sup>ab</sup>	105,40 ± 5,17 <sup>b</sup>
1-бутанол	0,70 ± 0,03 <sup>a</sup>	0,75 ± 0,03 <sup>a</sup>	0,86 ± 0,05 <sup>a</sup>	1,60 ± 0,08 <sup>b</sup>	1,60 ± 0,09 <sup>b</sup>
изоамилол	275,00 ± 10,45 <sup>a</sup>	310,30 ± 11,48 <sup>a</sup>	384,40 ± 11,53	431,80 ± 21,45	512,60 ± 22,53
1-пентанол	0,60 ± 0,02	1,02 ± 0,05	0,36 ± 0,01 <sup>a</sup>	0,40 ± 0,01 <sup>a</sup>	0,80 ± 0,04
этиллактат	0,50 ± 0,02 <sup>a</sup>	0,60 ± 0,03	0,50 ± 0,02 <sup>a</sup>	0,40 ± 0,02	0,50 ± 0,02 <sup>a</sup>
гексанол	0,95 ± 0,03 <sup>a</sup>	0,92 ± 0,05 <sup>a</sup>	1,27 ± 0,06 <sup>b</sup>	1,40 ± 0,08 <sup>b</sup>	1,70 ± 0,09
бензальдегид	9,30 ± 0,38 <sup>a</sup>	9,40 ± 0,48 <sup>a</sup>	23,02 ± 1,04 <sup>b</sup>	28,50 ± 1,14	25,30 ± 1,01 <sup>b</sup>
бензалкоголь	0,30 ± 0,01 <sup>a</sup>	0,34 ± 0,02 <sup>a</sup>	0,32 ± 0,02 <sup>a</sup>	0,40 ± 0,02	0,50 ± 0,03
фенилэтанол	35,25 ± 1,41 <sup>a</sup>	36,37 ± 1,73 <sup>a</sup>	39,48 ± 1,37 <sup>a</sup>	47,07 ± 2,16 <sup>b</sup>	51,90 ± 2,33 <sup>b</sup>
этилкапрат	60,20 ± 2,83 <sup>a</sup>	59,60 ± 1,97 <sup>a</sup>	57,50 ± 2,18 <sup>a</sup>	56,53 ± 2,20 <sup>ab</sup>	50,04 ± 1,75
<b>Итого</b>	<b>689,51</b>	<b>730,70</b>	<b>825,53</b>	<b>860,97</b>	<b>894,29</b>

Примечание: значения представлены в виде средних ± стандартное отклонение. Различие значений в каждой строке, обозначенных одинаковыми буквенными индексами, статистически не значимо при  $p < 0,05$ .

23% по сравнению с аналогичными показателями в отгоне кукурузной бражки. При этом показано, что концентрация сопутствующих синтезу этанола летучих метаболитов изменялась в зависимости от содержания гречихи в сбраживаемом сусле (Таблица 4).

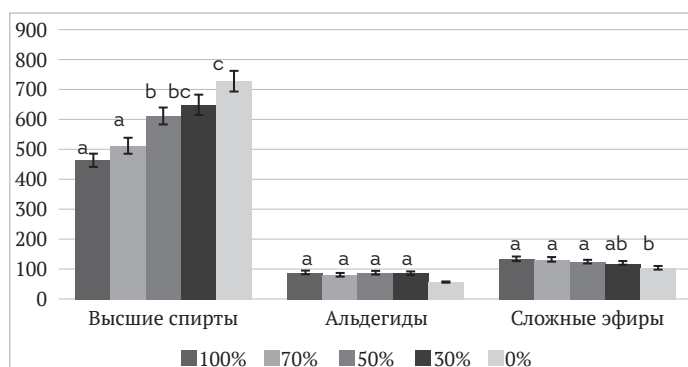
Сравнительный анализ состава метаболитов, синтезированных дрожжами *S. cerevisiae* 985-T, показал, что эти изменения происходили в основном за счет снижения синтеза высших спиртов (Рисунок 2). При этом установлено, что с увеличением количественного содержания гречихи в составе сбраживаемого сусла повышалась концентрация альдегидов и эфиров, которые могут оказывать существенное влияние на формирование сложного букета напитка и способствовать появлению оригинальных оттенков и тонов в аромате и вкусе дистиллятов [5,6,17]. Особенно в составе летучих примесей отгона кукурузно-гречишной бражки повысилось содержание ацетальдегида (более чем в 2 раза) и этилацетата (на 36%) (Таблица 4). Кроме того, несколько изменилась концентрация компонента энантового эфира, представленного в виде этилкапрата.

Полученные результаты подтвердили перспективность использования гречихи в качестве нетрадиционного сырья в технологиях оригинальных зерновых дистиллятов. Выявлено, что значимым фактором, влияющим как на процессы генерации дрожжей и спиртового брожения, так и на образование ценных ароматобразующих летучих компонентов, является соотношение гречихи и кукурузы в составе зернового сусла. Подобрано оптимальное соотношение кукурузы и гречихи в зерновой смеси (7:3), позволившее улучшить биохимические и технологические показатели зернового сусла, повысить эффективность процессов жизнедеятельности дрожжей и спиртового брожения.

#### 4. Выводы

В результате исследований обоснована и экспериментально подтверждена возможность применения гречихи в технологиях зерновых дистиллятов, в которых одним из ключевых факторов является уровень выхода спирта.

Показано, что при разработке зерновых композиций для получения спиртовых дистиллятов целесообразно применение гречихи в качестве источника биополимерного белка, незаменимых аминокислот, флавоноидов и минеральных веществ совместно с кукурузой, содержащей высокий уровень крахмала и низкое количество некрахмальных полисахаридов. Установлено, что особенности биохимического состава исследуемых культур (гречихи и кукурузы) оказывают влияние на качественные показатели зернового сусла, на процессы генерации дрожжей и спиртового брожения. При этом гречиха обогащает сусло ассимилируемым дрожжами азотом, а кукуруза



Примечание: различие значений, обозначенных одинаковыми буквенными индексами на каждой диаграмме, статистически не достоверно при  $p < 0,05$ .

Рисунок 2. Состав летучих метаболитов, синтезированных дрожжами *S. cerevisiae* 985-T в результате сбраживания зернового сусла, содержащего различные количества гречихи

Figure 2. Composition of volatile metabolites synthesized by the yeast *S. cerevisiae* 985-T as a result of fermentation of grain wort containing various quantities of buckwheat

за способствует повышению концентрации сбраживаемых углеводов и улучшению реологических показателей.

Разработанная зерновая композиция (оптимальное соотношение кукурузы и гречихи составило 7:3) позволила улучшить биохимические и технологические показатели зернового сусла, обеспечить нормативные показатели бражки, интенсифицировать процесс генерации дрожжей, повысить выход спирта, сократить образование побочных метаболитов и изменить их состав в сторону увеличения доли альдегидов и эфиров, что может оказывать влияние на аромат и аналитические показатели дистиллята. В дальнейшем могут быть разработаны спиртные напитки, обладающие своеобразными оттенками и тонами в их аромате и вкусе, что будет способствовать расширению ассортимента отечественной продукции.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ: АС — амиллитическая активность; ГлС — глюкоамилазная активность; КС — ксиланазная активность;  $\beta$ -ГлС —  $\beta$ -глюкоаназная активность; ПС — протеолитическая активность; РВ — редуцирующие вещества; ОРВ — общие редуцирующие вещества; РСВ — растворимые сухие вещества; ФП — ферментный препарат.

## БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

- Оганесянц, Л. А., Кобелев, К. В., Крикунова, Л. Н., Песчанская, В. А. (2014). Технично-экономическое обоснование выбора сырья для производства зерновых дистиллятов. *Пиво и напитки*, 2, 10–13.
- Волкова, С. В., Яковлева, О. В. (2019). Оценка качества дистиллятов для производства виски из некоторых видов зернового сырья местной селекции. *Вестник Могилевского Государственного университета продовольствия*, 1(26), 77–83.
- Rimareva, L. V., Serba, E. M., Overchenko, M. B., Shelekhova, N. V., Ignatova, N. I., Pavlova, A. A. (2022). Enzyme complexes for activating yeast generation and ethanol fermentation. *Foods and Raw Materials*, 10(1), 127–136. <http://doi.org/10.21603/2308-4057-2022-1-127-136>
- Franitz, L., Granvogel, M., Schieberle, P. (2016). Influence of the production process on the key aroma compounds of rum: From molasses to the spirit. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 64(47), 9041–9053. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.6b04046>
- Абрамова, И. М., Медриш, М. Э., Савельева, В. Б., Романова, А. Г., Гаврилова, Д. А. (2018). Исследование летучих примесей в спиртных напитках, изготовленных из выдержанных зерновых дистиллятов. *Пищевая промышленность*, 7, 74–76.
- Егорова, Е. Ю., Мороженко, Ю. В. (2018). Методические подходы к разработке и оценке качества новых напитков группы «дистилляты». Часть 2. Выбор сырья. *Ползуновский вестник*, 2, 17–21. <https://doi.org/10.25712/ASTU.2072-8921.2018.02.004>
- Римарева, Л. В., Кривова, А. Ю., Шелехова, Н. В., Оверченко, М. Б., Серба, Е. М. (2019). Каталитические особенности протеаз и фитаз при переработке полимеров трикалелевого сусла в производстве спирта. *Актуальные вопросы индустрии напитков*, 3, 184–190. <http://doi.org/10.21323/978-5-6043128-4-1-2019-3-184-190>
- Серба, Е. М., Римарева, Л. В., Чан, В. Т., Оверченко, М. Б., Игнатова, Н. И., Павлова, А. А. и др. (2022). Влияние особенностей состава зерна сорго на эффективность его микробной конверсии в этанол и лизин. *Журнал Сибирского федерального университета. Серия: Биология*, 15(3), 347–362.
- Крикунова, Л. Н., Песчанская, В. А., Дубинина, Е. В. (2017). Некоторые аспекты производства дистиллята из клубней топинамбура. Часть 1. Динамика
- распределения летучих компонентов при дистилляции сброженного сусла. *Техника и технология пищевых производств*, 1(44), 17–23.
- Oganesyants, L. A., Peshchanskaya, V. A., Krikunova, L. N., Dubinina, E. V. (2019). Research of technological parameters and criteria for evaluating distillate production from dried jerusalem artichoke. *Carpathian Journal of Food Science and Technology*, 11(2), 185–196. <https://doi.org/10.34302/crpfst/2019.11.2.15>
- Крикунова, Л. Н., Дубинина, Е. В., Ободева, О. Н. (2022). Возвратные отходы хлебопекарного производства — новый вид сырья для производства дистиллятов (Часть IV. Спиртный напиток). *Пищевые системы*, 5(1), 4–9. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2022-5-1-4-9>
- Крикунова, Л. Н., Дубинина, Е. В., Макаров, С. Ю. (2021). Возвратные отходы хлебопекарного производства — новый вид сырья для производства дистиллятов (Часть III. Стадия дистилляции). *Пищевые системы*, 4(2), 89–96. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2020-4-2-89-96>
- Троценко, А. С., Танашкина, Т. В., Корчагин, В. П., Клыков, А. Г. (2010). Проблемы и перспективы использования гречихи в пищевой биотехнологии. *Вестник Тихоокеанского Государственного экономического университета*, 2(54), 104–114.
- Серба, Е. М., Римарева, Л. В., Оверченко, М. Б., Игнатова, Н. И., Микуляк, А. А., Иванов, В. В. (2023). Обоснование перспективы использования гречихи в производстве оригинальных спиртных напитков. *Пищевая промышленность*, 5, 45–47. <https://doi.org/10.52653/PPI.2023.5.5.012>
- Deželak, M., Zarnkow, M., Becker, T., Košir, I. J. (2014). Processing of bottom-fermented gluten-free beer-like beverages based on buckwheat and quinoa malt with chemical and sensory characterization. *Journal of the Institute of Brewing*, 120(4), 360–370. <https://doi.org/10.1002/jib.166>
- Арафонов, Г. В., Чусова, А. Е., Ковальчук, Н. С., Зуева, Н. В. (2018). Возможность применения гречихи в технологии ферментированного солода. *Вестник Воронежского государственного университета инженерных технологий*, 80(4), 170–176. <https://doi.org/10.20914/2310-1202-2018-4-170-176>
- Серба, Е. М., Римарева, Л. В., Оверченко, М. Б., Игнатова, Н. И., Крючкова, Е. Р., Крыщенко, Ф. И. и др. (2023). Биотехнологические аспекты использования гречихи в производстве оригинальных спиртных напитков. *Биотехнология*, 39(2), 10–16. <https://doi.org/10.56304/S0234275823020114>

18. Zhu, F. (2021). Buckwheat proteins and peptides: Biological functions and food applications. *Trends in Food Science and Technology*, 110,155–167. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2021.01.081>
19. Giménez-Bastida, J.A., Zieliński, H. (2015). Buckwheat as a Functional Food and Its Effects on Health. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 63(36), 7896–7913. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.5b02498>
20. Zieliński, H., Ciesarová, Z., Kukurová, K., Zielinska D., Szawara-Nowak D., Starowicz M. et al. (2017). Effect of fermented and unfermented buckwheat flour on functional properties of gluten-free muffins. *Journal of Food Science and Technology*, 54, 1425–1432. <http://dx.doi.org/10.1007/s13197-017-2561-4>
21. Yilmaz, H. Ö., Ayhan, N. Y., Meriç, Ç. S. (2020). Buckwheat: A useful food and its effects on human health. *Current Nutrition and Food Science*, 16(1), 29–34. <http://doi.org/10.2174/1573401314666180910140021>
22. Горькова, И. В., Павловская, Н. Е., Даниленко, А. Н. (2016). Экстракты гречихи соевой и софоры японской как сырьевые источники биологически активных веществ. *Пищевая промышленность*, 2, 30–32.
23. Горькова, И. В. (2016). Применение гречневой муки в производстве функциональных продуктов. *Проблемы развития АПК региона*, 25(1–1(25)), 188–191.
24. Танашкина, Т. В., Перегодова, А. А., Семенюта, А. А., Боярова, Д. А. (2020). Безглютеновые гречишные квасы с добавлением пряно-ароматического сырья. *Техника и технология пищевых производств*, 50(1), 70–78. <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2020-1-70-78>
25. Танашкина, Т. В., Семенюта, А. А., Троценко, А. С., Клыкков, А. Г. (2017). Безглютеновые слабоалкогольные напитки из светлого и темного гречишного солода. *Техника и технология пищевых производств*, 45(2), 74–80. <https://doi.org/10.21179/2074-9414-2017-2-74-80>
26. Новикова, И. В., Калаев, В. Н., Агафонов, Г. В., Коротких, Е. А., Мальцева, О. Ю., Гуреев, А. П. (2015). Оценка интенсивности биосинтетических процессов у дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* при культивировании на средах с добавлением порошкообразного гречишного солодового экстракта. *Вестник Воронежского Государственного университета. Серия: Химия. Биология. Фармация*, 2, 73–79.
27. МСХ РФ (2007). Инструкция по технокимическому и микробиологическому контролю спиртового производства. Москва, ДеЛи принт, 2007.
28. Фармакопей РФ. ОФС.1.2.3.0022.15 Определение аминного азота методами формольного и йодометрического титрования. Электронный ресурс <https://pharmacopoeia.ru/ofs-1-2-3-0022-15-opredelenie-aminnogo-azota-metodami-formolnogo-i-jodometricheskogo-titrovaniya/?amp=1> Дата доступа 10.09.2023
29. Абрамова, И. М., Медриш, М. Э., Савельева, В. Б., Приёмухова, Н. В., Романова, А. Г., Преснякова, О. П. (2018). Сравнительный анализ методов исследования примесей в дистиллятах и спиртных напитках на их основе. *Хранение и переработка сельхозсырья*, 2, 14–19.
30. Starowicz, M., Koutsidis, G., Zielinski, H. (2018). Sensory analysis and aroma compounds of buckwheat containing products – a review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 58(11), 1767–1779. <https://doi.org/10.1080/10408398.2017.1284742>

## REFERENCES

1. Oganesyants, L. A., Kobelev, K. V., Krikunova, L. N., Peschanskaya, V. A. (2014). Feasibility study on the selection of raw materials or the production of grain distillate. *Beer and Beverages*, 2, 10–13. (In Russian)
2. Volkova, S. V., Yakovleva, O. V. (2019). Assessment of the quality of distillates for the production of whiskey from certain types of grain raw materials of local selection. *Bulletin of Mogilev State University of Food Technologies*, 1(26), 77–83. (In Russian)
3. Rimareva, L. V., Serba, E. M., Overchenko, M. B., Shelekhova, N. V., Ignatova, N. I., Pavlova, A. A. (2022). Enzyme complexes for activating yeast generation and ethanol fermentation. *Foods and Raw Materials*, 10(1), 127–136. <http://doi.org/10.21603/2508-4057-2022-1-127-136>
4. Frantiza, L., Granvogel, M., Schieberle, P. (2016). Influence of the production process on the key aroma compounds of rum: From molasses to the spirit. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 64(47), 9041–9053. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.6b04046>
5. Abramova, I. M., Medrish, M. E., Savel'eva, V. B., Romanova, A. G., Gavrilova D. A. (2018). Study of volatile impurities in alcoholic beverages made from aged grain distillates. *Food Industry*, 7, 74–76. (In Russian)
6. Egorova, E. Yu., Morozhenko, Yu. V. (2018). Methodological approaches to the development and quality assessment of new beverages of the group "distillates". Part 2. Selection of raw materials. *Polzunovskiy Vestnik*, 2, 17–21. <https://doi.org/10.25712/ASTU.2072-8921.2018.02.004> (In Russian)
7. Rimareva, L. V., Krivova, A. Y., Shelekhova, N. V., Overchenko, M. B., Serba, E. M. (2019). Catalytic features of protease and fitaz when processing politicals of the tritritical-without in manufacture of alcohol. *Current Issues of the Beverage Industry*, 3, 184–190. <http://doi.org/10.21523/978-5-6043128-4-1-2019-3-184-190> (In Russian)
8. Serba, E. M., Rimareva, L. V., Tran, V. Ch., Overchenko, M. B., Ignatova, N. I., Pavlova, A. A. et al. (2022). The influence of the sorghum grain composition on the efficiency of its microbial conversion to ethanol and lysine. *Journal of Siberian Federal University. Biology*, 15(3), 347–362. (In Russian)
9. Krikunova, L. N., Peschanskaya, V. A., Dubinina, E. V. (2017). Some aspects of distillate production from jerusalem artichoke tubers. Part 1. Dynamic of distribution of volatile components by distillation of fermented wort. *Food Processing: Techniques and Technology*, 1(44), 17–23. (In Russian)
10. Oganesyants, L. A., Peschanskaya, V. A., Krikunova, L. N., Dubinina, E. V. (2019). Research of technological parameters and criteria for evaluating distillate production from dried jerusalem artichoke. *Carpathian Journal of Food Science and Technology*, 11(2), 185–196. <https://doi.org/10.34302/crpfjst/2019.11.2.15>
11. Krikunova, L. N., Dubinina, E. V., Obodeeva, O. N. (2022). Returnable baking waste – a new type of raw materials for distillates production (Part IV. Spirit drink). *Food Systems*, 5(1), 4–9. <https://doi.org/10.21523/2618-9771-2022-5-1-4-9> (In Russian)
12. Krikunova, L. N., Dubinina, E. V., Makarov, S. Yu. (2021). Returnable baking waste – a new type of raw materials for distillates production (Part III. Distillation stage). *Food Systems*, 4(2), 89–96. <https://doi.org/10.21523/2618-9771-2020-4-2-89-96> (In Russian)
13. Trotsenko, A. S., Tanashkina, T. V., Korchagin, V. P., Klykov, A. G. (2010). Problems and perspectives of usage of buck weed (*Fagopyrum esculentum*) in food biotechnology. *Bulletin of the Pacific State Economic University*, 54(2), 104–114. (In Russian)
14. Serba, E. M., Rimareva, L. V., Overchenko, M. B., Ignatova N. I., Mikulyak, A. A., Ivanov, V. V. (2023). Substantiation of the prospects of using buckwheat in the production of original alcoholic beverages. *Food Industry*, 5, 45–47. <https://doi.org/10.52653/PPi.2023.5.5.012> (In Russian)
15. Deželak, M., Zarnkow, M., Becker, T., Košir, I. J. (2014). Processing of bottom-fermented gluten-free beer-like beverages based on buckwheat and quinoa malt with chemical and sensory characterization. *Journal of the Institute of Brewing*, 120(4), 360–370. <https://doi.org/10.1002/jib.166>
16. Agafonov, G. V., Chusova, A. E., Kovalchuk, N. S., Zuyeva, N. V. (2018). The possibility of buckwheat application in the fermented malt technology. *Proceedings of the Voronezh State University of Engineering Technologies*, 80(4), 170–176. <https://doi.org/10.20914/2310-1202-2018-4-170-176> (In Russian)
17. Serba, E. M., Rimareva, L. V., Overchenko, M. B., Ignatova, N. I., Kryuchkova, E. R., Kryshchenko, F. I. et al. (2023). Biotechnological aspects of the use of buckwheat in the production of original alcoholic beverages. *Biotechnology*, 39(2), 10–16. <https://doi.org/10.56304/S0234275823020114> (In Russian)
18. Zhu, F. (2021). Buckwheat proteins and peptides: Biological functions and food applications. *Trends in Food Science and Technology*, 110,155–167. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2021.01.081>
19. Giménez-Bastida, J.A., Zieliński, H. (2015). Buckwheat as a Functional Food and Its Effects on Health. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 63(36), 7896–7913. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.5b02498>
20. Zieliński, H., Ciesarová, Z., Kukurová, K., Zielinska D., Szawara-Nowak D., Starowicz M. et al. (2017). Effect of fermented and unfermented buckwheat flour on functional properties of gluten-free muffins. *Journal of Food Science and Technology*, 54, 1425–1432. <http://dx.doi.org/10.1007/s13197-017-2561-4>
21. Yilmaz, H. Ö., Ayhan, N. Y., Meriç, Ç. S. (2020). Buckwheat: A useful food and its effects on human health. *Current Nutrition and Food Science*, 16 (1), 29–34. <http://doi.org/10.2174/1573401314666180910140021>
22. Gorkova, I. V., Pavlovskaya, N. E., Danilenko, A. N. (2016). Extracts of buckwheat and sophora japonica as a raw source of biologically active substances. *Food Industry*, 2, 30–32. (In Russian)
23. Gorkova, I. V. (2016). Using buckwheat in functional food production. *Development Problems of Regional Agro-Industrial Complex*, 25(1–1(25)), 188–191. (In Russian)
24. Tanashkina, T. V., Peregoedova, A. A., Semenyuta, A. A., Boyarova, M. D. (2020). Gluten-free buckwheat kvass with aromatic raw materials. *Food Processing: Techniques and Technology*, 50(1), 70–78. <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2020-1-70-78> (In Russian)
25. Tanashkina, T. V., Semenyuta, A. A., Trotsenko, A. S., Klykov, A. G. (2017). Gluten-free low-alcohol beverages fermented from light and scalding buckwheat malt. *Food Processing: Techniques and Technology*, 45(2), 74–80. <https://doi.org/10.21179/2074-9414-2017-2-74-80> (In Russian)
26. Novikova, I. V., Kalaev, V. N., Agafonov, G. V., Korotkikh, E. A., Maltseva, O. Yu., Gureev A. P. (2015). Estimate the intensity of biosynthetic processes yeast *Saccharomyces cerevisiae* when cultured on a medium with the addition of powdered malt extract buckwheat. *Proceedings of Voronezh State University. Series: Chemistry. Biology. Pharmacy*, 2, 73–79. (In Russian)
27. Ministry of Agriculture of the Russian Federation (2007). Instruction on technocemical and microbiological control of alcohol production. Moscow, DeLi print, 2007. (In Russian)
28. Russian Pharmacopoeia. OFS.1.2.3.0022.15 Determination of amino nitrogen by the methods of formol and iodometric titration. Retrieved from <https://pharmacopoeia.ru/ofs-1-2-3-0022-15-opredelenie-aminnogo-azota-metodami-formolnogo-i-jodometricheskogo-titrovaniya/?amp=1> Accessed September 10, 2023 (In Russian)
29. Abramova, I. M., Medrish, M. E., Savel'eva, V. B., Priemukhova, N. V., Romanova, A. G., Prsenyakov, O. P. (2018). Comparative analysis of methods for studying impurities in distillates and alcoholic drinks based on them. *Storage and Processing of Farm Products*, 2, 14–19. (In Russian)
30. Starowicz, M., Koutsidis, G., Zielinski, H. (2018). Sensory analysis and aroma compounds of buckwheat containing products – a review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 58(11), 1767–1779. <https://doi.org/10.1080/10408398.2017.1284742>

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ	AUTHOR INFORMATION
<b>Принадлежность к организации</b>	<b>Affiliation</b>
<p><b>Серба Елена Михайловна</b> — доктор биологических наук, доцент, профессор РАН, член-корреспондент РАН, заместитель директора по научной работе, Всероссийский научно-исследовательский институт пищевой биотехнологии — филиал Федерального государственного бюджетного учреждения науки Федерального исследовательского центра питания, биотехнологии и безопасности пищи 111033, Москва, Самокатная ул. 4-Б Тел.: +7-916-515-92-73 E-mail: serbae@mail.ru ORCID: <a href="http://orcid.org/0000-0002-1660-2634">http://orcid.org/0000-0002-1660-2634</a> * автор для контактов</p>	<p><b>Elena M. Serba</b>, Doctor of Biological Sciences, Associate Professor, Professor of the Russian Academy of Sciences, Corresponding Member of the Russian Academy of Sciences, Deputy Director for Research, Russian Research Institute of Food Biotechnology is a Branch of Federal Research Center of Food, Biotechnology and Food Safety 4-B Samokatnaya str., 111033, Moscow, Russia Tel.: +7-916-515-92-73 E-mail: serbae@mail.ru ORCID: <a href="http://orcid.org/0000-0002-1660-2634">http://orcid.org/0000-0002-1660-2634</a> * corresponding author</p>
<p><b>Крючкова Елизавета Романовна</b> — инженер-технолог, отдел биотехнологии ферментов, дрожжей, органических кислот и БАД, Всероссийский научно-исследовательский институт пищевой биотехнологии — филиал Федерального государственного бюджетного учреждения науки Федерального исследовательского центра питания, биотехнологии и безопасности пищи 111033, Москва, Самокатная ул. 4-Б Тел.: +7-495-362-46-78 E-mail: <a href="mailto:kruchkovaer@gmail.com">kruchkovaer@gmail.com</a> ORCID: <a href="https://orcid.org/0000-0001-8012-0907">https://orcid.org/0000-0001-8012-0907</a></p>	<p><b>Elizaveta R. Kryuchkova</b>, Process Engineer, Department of Biotechnology of Enzymes, Yeast, Organic Acids and Dietary Supplements, Russian Research Institute of Food Biotechnology is a Branch of Federal Research Center of Food, Biotechnology and Food Safety 4-B Samokatnaya str., 111033, Moscow, Russia Tel.: +7-495-362-46-78 E-mail: <a href="mailto:kruchkovaer@gmail.com">kruchkovaer@gmail.com</a> ORCID: <a href="https://orcid.org/0000-0001-8012-0907">https://orcid.org/0000-0001-8012-0907</a></p>
<p><b>Римарева Любовь Вячеславовна</b> — доктор технических наук, профессор, академик РАН, заслуженный деятель науки, главный научный сотрудник, отдел биотехнологии ферментов, дрожжей, органических кислот и БАД, Всероссийский научно-исследовательский институт пищевой биотехнологии — филиал Федерального государственного бюджетного учреждения науки Федерального исследовательского центра питания, биотехнологии и безопасности пищи 111033, Москва, Самокатная ул. 4-Б Тел.: +7-495-362-46-78 E-mail: <a href="mailto:lrimateva@mail.ru">lrimateva@mail.ru</a> ORCID: <a href="http://orcid.org/0000-0003-3097-0836">http://orcid.org/0000-0003-3097-0836</a></p>	<p><b>Lyubov V. Rimareva</b>, Doctor of Technical Sciences, Professor, Academician of the Russian Academy of Sciences, Honored Scientist, Chief Researcher, department of biotechnology of enzymes, yeast, organic acids and dietary supplements, Russian Research Institute of Food Biotechnology is a Branch of Federal Research Center of Food, Biotechnology and Food Safety 4-B Samokatnaya str., 111033, Moscow, Russia Tel.: +7-495-362-46-78 E-mail: <a href="mailto:lrimateva@mail.ru">lrimateva@mail.ru</a> ORCID: <a href="http://orcid.org/0000-0003-3097-0836">http://orcid.org/0000-0003-3097-0836</a></p>
<p><b>Overchenko Марина Борисовна</b> — кандидат технических наук, ведущий научный сотрудник, отдел биотехнологии ферментов, дрожжей, органических кислот и БАД, Всероссийский научно-исследовательский институт пищевой биотехнологии — филиал Федерального государственного бюджетного учреждения науки Федерального исследовательского центра питания, биотехнологии и безопасности пищи 111033, Москва, Самокатная ул. 4-Б Тел.: +7-495-362-46-78 E-mail: <a href="mailto:mb_over@mail.ru">mb_over@mail.ru</a> ORCID: <a href="https://orcid.org/0000-0003-0191-5897">https://orcid.org/0000-0003-0191-5897</a></p>	<p><b>Marina B. Overchenko</b>, Candidate of Technical Sciences, Leading Researcher, Department of Biotechnology of Enzymes, Yeast, Organic Acids and Dietary Supplements, Russian Research Institute of Food Biotechnology is a Branch of Federal Research Center of Food, Biotechnology and Food Safety 4-B Samokatnaya str., 111033, Moscow, Russia Tel.: +7-495-362-46-78 E-mail: <a href="mailto:mb_over@mail.ru">mb_over@mail.ru</a> ORCID: <a href="https://orcid.org/0000-0003-0191-5897">https://orcid.org/0000-0003-0191-5897</a></p>
<p><b>Игнатова Надежда Иосифовна</b> — научный сотрудник, отдел биотехнологии ферментов, дрожжей, органических кислот и БАД, Всероссийский научно-исследовательский институт пищевой биотехнологии — филиал Федерального государственного бюджетного учреждения науки Федерального исследовательского центра питания, биотехнологии и безопасности пищи 111033, Москва, Самокатная ул. 4-Б Тел.: +7-495-3624678 E-mail: <a href="mailto:ignatova59@list.ru">ignatova59@list.ru</a> ORCID: <a href="https://orcid.org/0000-0002-8416-7478">https://orcid.org/0000-0002-8416-7478</a></p>	<p><b>Nadezhda I. Ignatova</b>, Research Assistant, Department of Biotechnology of Enzymes, Yeast, Organic Acids and Dietary Supplements, Russian Research Institute of Food Biotechnology is a Branch of Federal Research Center of Food, Biotechnology and Food Safety 4-B Samokatnaya str., 111033, Moscow, Russia Tel.: +7-495-362-46-78 E-mail: <a href="mailto:ignatova59@list.ru">ignatova59@list.ru</a> ORCID: <a href="https://orcid.org/0000-0002-8416-7478">https://orcid.org/0000-0002-8416-7478</a></p>
<p><b>Павленко Светлана Владимировна</b> — младший научный сотрудник испытательной лаборатории, Всероссийский научно-исследовательский институт пищевой биотехнологии — филиал Федерального государственного бюджетного учреждения науки Федерального исследовательского центра питания, биотехнологии и безопасности пищи 111033, Москва, Самокатная ул. 4-Б Тел.: +7-495-362-43-51 E-mail: <a href="mailto:tehnohimkontrol@mail.ru">tehnohimkontrol@mail.ru</a> ORCID: <a href="https://orcid.org/0000-0003-4060-6325">https://orcid.org/0000-0003-4060-6325</a></p>	<p><b>Svetlana V. Pavlenko</b>, Junior Researcher of Testing Laboratory, Russian Research Institute of Food Biotechnology is a Branch of Federal Research Center of Food, Biotechnology and Food Safety 4-B Samokatnaya str., 111033, Moscow, Russia Tel.: +7-495-362-43-51 E-mail: <a href="mailto:tehnohimkontrol@mail.ru">tehnohimkontrol@mail.ru</a> ORCID: <a href="https://orcid.org/0000-0003-4060-6325">https://orcid.org/0000-0003-4060-6325</a></p>
<b>Критерии авторства</b>	<b>Contribution</b>
<p>Авторы в равных долях имеют отношение к написанию рукописи и одинаково несут ответственность за плагиат.</p>	<p>Authors equally relevant to the writing of the manuscript, and equally responsible for plagiarism.</p>
<b>Конфликт интересов</b>	<b>Conflict of interest</b>
<p>Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.</p>	<p>The authors declare no conflict of interest.</p>

DOI: <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2024-7-1-84-90>



Received 21.09.2023

Accepted in revised 12.03.2024

Accepted for publication 15.03.2024

© Galal W. K., Abd El-Salam R. S., Marie A. M., 2024

Available online at <https://www.fsjour.com/jour>

Original scientific article

Open access

## HIGH NUTRITIONAL VALUE INSTANT FLAKES PRODUCED FROM VARIOUS CEREAL GRAINS

Wafaa K. Galal, Reham S. Abd El-Salam\*, Asmaa M. Marie\*

Crops Technology Research Department, Food Technology Research Institute, Agricultural Research Center, Giza, Egypt

### KEY WORDS:

whole grains, cereal flakes, sensory evaluation, physicochemical characteristics, functional properties

### ABSTRACT

The current study was carried out to prepare functional flakes from various cereals and to assess the nutritional value of breakfast cereal flakes and their sensory acceptability. Oat, soft wheat and durum wheat, barley (hull-less and hulled), triticale, millet and sorghum grains have been used. Physicochemical, functional, phytochemical properties and sensory evaluation were determined. The developed cereal flakes have high nutritional value and are high in dietary fiber. Concerning the overall acceptability of flakes, durum wheat, hull-less barley and triticale were more preferred than the other samples. Meanwhile, hulled barley and millet flakes showed the lowest scores compared with other flake samples due to the lowest score of their appearance and color. Triticale, durum wheat and hulled barley turned to be good alternatives for oat to prepare flakes of high-quality characteristics, as they have high protein (13.46, 11.92 and 11.67%, respectively) and ash contents along with low content of fat and low calories. In terms of nutritional quality, the results indicated that oat flakes were higher in Mg and P content, durum wheat flakes showed higher content of Mn, triticale had the highest content of K and Ca, and millet had the highest content of Zn and Fe. Triticale flakes showed significantly higher content of dietary fiber and water absorption index at room and hot temperatures when compared with other flakes. While comparing total phenolic content, the millet and barley flakes showed the highest values. Additionally, most flake samples had significantly higher values of antioxidant activity compared to oat flakes used as control samples.

Поступила 21.09.2023

Поступила после рецензирования 12.03.2024

Принята в печать 15.03.2024

© Галал, В. К., Абд Эль-Салам, Р. С., Мари, А. М., 2024

<https://www.fsjour.com/jour>

Научная статья

Open access

## ВЫСОКАЯ ПИЩЕВАЯ ЦЕННОСТЬ ГОТОВЫХ ХЛОПЬЕВ, ПРОИЗВЕДЕННЫХ ИЗ РАЗЛИЧНЫХ ЗЛАКОВ

Галал В. К., Абд Эль-Салам Р. С., \* Мари А. М.\*

Научно-исследовательский институт пищевых технологий, Центр сельскохозяйственных исследований, Гиза, Египет

### КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: АННОТАЦИЯ

цельное зерно, злаковые хлопья, органолептическая оценка, физико-химические характеристики, функциональные свойства

Настоящая статья посвящена исследованию функциональных хлопьев для завтрака из разных зерновых для оценки их питательной ценности и чувственного восприятия. Были использованы сорта овса, мягкой пшеницы и твердой пшеницы дурум, сорта ячменя (без шелухи и с шелухой), тритикале, просо и сорго зерна. Проведены исследования физико-химических характеристик, функциональных, фитохимических свойств и проведена органолептическая оценка. Хлопья для завтрака имеют высокую питательную ценность и высокое содержание диетической клетчатки. Исследования показали, что пшеница, ячмень без шелухи, тритикале, как сырье для изготовления хлопьев оказались более предпочтительными, чем другие злаки. В то же время хлопья из ячменя и проса, показали самые низкие оценки по сравнению с другими образцами хлопья из-за низких показателей внешнего вида и цвета. Тритикале, твердая пшеница дурум и ячмень являются хорошей альтернативой овсу для приготовления высококачественных хлопьев, поскольку они имеют высокое содержание белка (13,46, 11,92 и 11,67% соответственно) и содержания золы, в то время как содержание жира более низкое, также как и калорийность. С точки зрения качества питания, результаты показали, что овсяные хлопья отличались более высоким содержанием Mg и P, хлопья из твердой пшеницы дурум отличались более высоким содержанием Mn, у хлопьев из тритикале было самое высокое содержание K и Ca, а просяные хлопья имели самый высокий уровень содержания Zn и Fe. Хлопья из тритикале показали значительно более высокое содержание диетических волокон и водопоглощения при комнатной и повышенной температуре по сравнению с другими образцами. Сравнивая общее содержание фенола, следует отметить, что хлопья из сортов проса и ячменя показали самые высокие значения. Кроме того, большинство образцов имели значительно высокие значения антиоксидантной активности по сравнению с овсяными хлопьями, используемыми в качестве контрольного образца.

### 1. Introduction

Cereal products cover about half of the daily calorie intake of humans worldwide, ranging from 25 to 55% in several European countries and some developing countries, respectively [1]. Recently, breakfast cereals have become considered one of the staples in the human diet [2]. They are common food products made of whole grain cereals. Cereal grains have nourished humanity since their domestication thousands of years ago and they continue to be the most important food source for human consumption.

Whole grain food consumption has received considerable attention for its health benefits. It is a main factor that maintains a healthy lifestyle to

achieve and keep a healthful body mass index [3]. Generally, cereal grains are the most substantial source of energy in the human diet, as they have high contents of carbohydrates (70–80%), proteins (7.5–15%), and minerals (1.5–3%), and low content of fat (1–4%) [4,5]. They are rich sources of vitamins (E and B), minerals (in particular zinc, highly available iron, copper, manganese, phosphorus, potassium, calcium and magnesium), carbohydrates, fats, protein and phytochemicals. Whole grains of cereals and pseudo-cereals contain various dietary fiber profiles such as arabinoxylan, β-glucan and fructan. These help to reduce the risk of obesity, diabetes of type-2, heart and cardiovascular diseases, certain types of cancer and other health concerns [6,7].

FOR CITATION: Galal, W. K., Abd El-Salam, R. S., Marie, A. M. (2024). High nutritional value instant flakes produced from various cereal grains. *Food Systems*, 7(1), 84-90. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2024-7-1-84-90>

Для ЦИТИРОВАНИЯ: Галал, В. К., Абд Эль-Салам, Р. С., Мари, А. М. (2024). Высокая пищевая ценность готовых хлопьев, произведенных из различных злаков. *Пищевые системы*, 7(1), 84-90. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2024-7-1-84-90>

Wheat, triticale, sorghum and corn have a high content of arabinoxylan, whereas oat, barley, and triticale feature functional properties due to high  $\beta$ -glucan level [8,9]. From a nutritional point of view, triticale grains are more nutritionally valuable than other cereals such as wheat, due to their high essential amino acid content [10]. Furthermore, soluble dietary fiber such as that found in oats and barley, slows carbohydrate absorption and suppresses rising of blood sugar and regulates insulin response [11]. According to the modern science of nutrition, food is not only a source of energy but also a complex of biologically active matters that regulate the different functions of the human body. There is increased demand for functional foods as a main source of external antioxidants [12]. Millet and sorghum contain a wide variety of phenols and possess antioxidant activity [13,14]. Millet grains have a high potential as a gluten-free food for human consumption, as well they have a high content of dietary fiber and essential amino acids [15].

Whole grains can be consumed as intact, cracked, ground, flaked, or processed kernels after the removal of inedible parts [16]. Thus, the processing is an important task to enhance the bioavailability of nutrients and sensory properties and to decrease the content of antinutrients [17,18]. Additionally, quick and easy-to-prepare whole grain foods would help people increase their consumption of these foods. Ready-to-eat cereals are produced by various technological processes such as cooking, drying, shaping, flavoring, and enrichment with micronutrients [19].

Globally, oat flakes are the most common commercial oat products [20]. They can be classified according to the processing technology into rolled oats, steel-cut oats (Irish oats), instant oats and quick oats [21]. Part of consumers prefer to use traditional flakes for not only making porridge but also for consuming them with milk or yogurt. Traditional cereal flakes are produced by steam treatment up to definite moisture content and then flaking. Various techniques are developed for flake production technology to produce high-quality food products. These techniques could influence the bulk density and sensory properties of products [22]. Ready-to-cook foods based on nutritious grains such as millet, sorghum and triticale would be more reasonable in the modern times in the management of lifestyle disorders.

Owing to the high nutritional value and versatile health benefits of various cereals, this study has been carried out to develop functional cereal flakes as alternatives for oat. Various local whole grains (wheat, barley, triticale, millet and sorghum) have been used to produce the cereal flakes samples. The produced flakes from various cereal grains were compared with commercial oat flakes and the differences in the physicochemical and functional properties, nutrient composition and sensory characteristics between the flakes were evaluated.

## 2. Materials and methods

Various cereal grains: soft wheat (*Triticum aestivum* L. Misr-3 variety), durum wheat (*Triticum durum* L. Sohag-3 variety), hull-less barley (*Hordeum vulgare*, Giza-129 variety), hulled barley (Giza-123 variety), triticale (*Triticosecale*, Balady variety), millet (*Cenchrus americanus*, Shandawel-1 variety), and white sorghum (*Sorghum bicolor*, Giza-10 variety) were obtained from the Field Crops Research Institute, Agricultural Research Center, Giza, Egypt. Naked oat grains (*Avena sativa*) and commercial ready-to-eat rolled oat flakes as a control sample obtained from a local market (Harraz).

The weight of 1,000 kernels in grams was determined by weighing 100 kernels in triplicate and then extrapolating this weight to 1,000 kernels. Test weight (hectoliter) of different cereal grains was carried out according to the method of AACC (2010) [23].

Cereal flakes were produced simply, as shown in Figure 1, from various cereal grains after being cleaned and washed with water. Flakes were manufactured according to the method of Takhellambam *et al.* [24] with some modifications. Processing technology includes soaking for 8 h, cooking (for 20–40 min at 80 °C), and then flattening to flake shape between two spinning rollers (at a roll clearance of 0.6 mm) using a simple rolling pasta machine (Pastadrive, Atlants, China). The produced flakes were air dried for 4–6 h at 45 °C, then packed in polyethylene bags and stored in the refrigerator till further analysis.

The produced flake samples mixed with warm milk were evaluated, using a nine-points hedonic scale, by ten members of the Food Technology Research Institute, Agricultural Research Center, Giza, Egypt [25]. They were asked to score the various flakes by general appearance, color, odor, taste, mouth feel and overall food acceptability. All samples were coded and presented in a randomized arrangement.

The colorimetric measurements were measured in triplicate using a colorimeter (Konica Minolta Chroma Meter CR-400, Japan) according to McGurie [26]. The color values were recorded as:  $L^*$  = lightness (0 = black, 100 = white),  $a^*$  = greenness - redness ( $-a^*$  = greenness,  $+a^*$  = redness) and  $b^*$  = blueness - yellowness ( $-b^*$  = blueness,  $+b^*$  = yellowness).



Figure 1. A photograph of the produced flakes from various cereal grains

Рисунок 1. Фотография хлопьев, произведенных из различных злаков

Bulk density (specific mass) of flake samples was determined according to the method of Akaaimo and Raji [27] as a ratio of the mass of the flake sample to its volume occupied as shown in the following formula.

$$\text{Bulk density (g/ml)} = \frac{\text{Flakes weight (g)}}{\text{Flakes volume (ml)}} \quad (1)$$

The true density of the flakes was measured according to the method of Mwithiga and Sifuna [28] using the toluene displacement method. It is calculated as a ratio of the flakes weight to the volume of toluene displacement using the following formula:

$$\text{True density (g/ml)} = \frac{\text{Flakes weight (g)}}{\text{Rise in toluene level (ml)}} \quad (2)$$

Water activity ( $a_w$ ) was determined using LabStart-aw (Novasina, Switzerland) equipment. The  $a_w$  values were ranged from 0 to 1 for a completely dehydrated food and for pure water, respectively.

Room temperature water absorption index (RTWAI) of cereal flakes was determined according to the developed method for cereals [29]. Twenty grams of flakes were weighed ( $W_1$ ) in a 250 ml beaker and 150 ml of distilled water was added. The beaker was kept in a water bath at 25 °C for 20 min. The samples were filtered, weighed ( $W_2$ ), and then calculated according to the following equation:

$$\text{RTWAI (\%)} = [(W_2 - W_1) / W_1] \times 100 \quad (3)$$

High temperature water absorption index (HTWAI) of different cereals flakes were examined according to the method of Hu *et al.* [21]. Twenty grams of flakes ( $W_1$ ) were placed in a 250 ml centrifuge tube, 150 ml of distilled water was added, and kept in a water bath at 80 °C for 10 min. After that, the slurry was centrifuged at 3,000 rpm for 15 min, and the precipitate was collected and weighed ( $W_2$ ) and then calculated according to the following equation:

$$\text{HTWAI (\%)} = (W_2 / W_1) \times 100 \quad (4)$$

Rehydration ratio was calculated according to Huang *et al.* [30]. Two grams of each flake sample were rehydrated in (20 ml) distilled water in a water bath at constant temperature and was agitated at constant speed. The samples were taken out from the bath after 10 min and weight. The rehydration ratio was defined as the ratio of the weight of rehydrated samples to the dry weight of the samples. The rehydration ratio was calculated using the weight of samples before and after rehydration as follow:

$$\text{Rehydration ratio} = \frac{W_2 - W_1}{W_1} \quad (5)$$

$W_1$  is the initial weight of the flake samples and  $W_2$  is the final weight of the flakes.

Chemical parameters (moisture, crude protein, fat, ash, crude fiber and carbohydrates) of various cereal grains and produced flake samples were determined according to the methods outlined in AOAC [31]. The values obtained for fat, protein, and carbohydrate contents were used to

calculate the food energy or calorific value of the cereal flake samples according to the AOAC methods [31]. It was expressed as the following equation:

$$\text{Calorific value (kcal/100 g)} = (\text{Fat} \times 9) + (\text{Protein} \times 4) + (\text{Carbohydrates} \times 4) \quad (6)$$

The total dietary fiber (TDF) content was determined in the all studied flake samples according to AOAC [31]. Duplicate samples are processed which enabled subtraction of protein and ash for TDF content calculation.

The minerals content of different flake samples were determined by using the flame photometer (Galienkamp, FGA 330, England) and Perkin Elmer Atomic Absorption Spectrophotometer (Model 80, England) as described in AOAC [31] for magnesium, potassium, zinc, calcium, manganese and iron. Phosphorus content was detected calorimetrically using a spectrophotometer at 650 nm according to the method of AOAC [32].

Total phenolic content (TPC) was determined according to Singleton and Rossi [33] using the Folin-Ciocalteu reagent method. Total flavonoid content (TFC) was determined using the aluminum chloride colorimetric method as reported by Eghdami and Sadeghi [34].

The free radical scavenging activity was determined using the 2,2-diphenyl-2-picryl-hydrazyl (DPPH) method and the absorbance at 517 nm according to Fischer et al. [35]. The scavenging activity was calculated using the following equation:

$$\text{DPPH radical-scavenging activity (\%)} = [(A - B) / A] \times 100 \quad (7)$$

where *A* is the absorbance of the control sample, and *B* is the absorbance of the cereal flake extracts.

Statistical analysis of experimental data was performed by analysis of variance (ANOVA) of the producers using SPSS16.0 software to examine differences of statistical significance among the analysis means of experimental data. Duncan's multiple range tests at ( $P \leq 0.05$ ) level was used to compare the mean values.

### 3. Results and discussion

Physical and chemical characteristics of various cereal grains (soft wheat and durum wheat, hull-less and hulled barley, triticale, millet, sorghum, and oat as a control sample) are shown in Table 1. A significant dif-

ference was observed in the 1,000-kernel weight among the used cereals, and the weights ranged from 9.34 g for millet to 53.20 g for durum wheat grains. The specific weight (hectoliter) of various grains ranged from 65.89 to 81.72 kg/hl for triticale and durum wheat grains, respectively.

The moisture content of cereal grains was in the range of 9.06–10.50%. All used cereals, except triticale, contain significantly lower protein content compared to the oat as a control sample. Significantly, triticale flakes have the highest protein content (13.71%) among other cereals which is consistent with the obtained results of Glamočlija et al. [36] who reported that the protein content of triticale was higher than in other cereals. Also, they mentioned that the increasing interest in triticale grains is due to the high protein content compared to other cereals. Regarding the fat content, it could be noticed that millet has the highest content (6.41%) followed by oat and sorghum grains (5.68 and 4.05%, respectively). Millet grain has a high content of fat because the germ represents about 21% of the whole grain [37]. On the other hand, triticale has the lowest fat content (1.84%). Among all cereal grains, triticale has the highest ash content (2.68%) while sorghum and soft wheat have the lowest content (1.76 and 1.77%, respectively). The crude fiber content of cereal grains varied from 1.82% for hull-less barley to 3.45% for triticale.

Sensory parameters should be taken into account as important values of flakes where consumers can select flakes from the markets depending on sensory evaluation and price. The sensory attributes of the flakes from different cereal grains assessed on a 9-point hedonic scale are given in Table 2 in comparison with commercial oat flake sample.

Whole grains contain biopolymers and flavor-active compounds as well as cell wall structures which may change flavor and texture attributes during processing [38]. Various cereals and varieties may cause major variations in the results, due to the sensitivity of some cereals and varieties to the hydrothermal treatment and form toasted characteristics more than others [39]. Results showed that no significant differences were observed in appearance scores of oat, soft wheat, durum wheat and sorghum flakes compared with commercial oat. Concerning the color parameter, there were no significant differences among all samples except that of hulled barley, triticale and millet flake samples. All flake samples were not significantly different in odor at a 0.05 level of significance. The higher scores of the taste parameter were recorded for commercial oat, hull-less barley, triticale and durum wheat samples. Millet flakes had

Table 1. Physicochemical characteristics of whole grain cereals

Таблица 1. Физико-химические характеристики цельнозерновых хлопьев

Cereal grains	Physical properties			Chemical properties				
	1,000-kernel wt. (g)	Hectoliter (kg/hl)	Moisture (%)	Protein (%)	Fat (%)	Ash (%)	Crude fiber (%)	Carbohydrate content (%)
Oat	25.44±0.31 <sup>f</sup>	73.11±0.26 <sup>e</sup>	9.47±0.10 <sup>d</sup>	13.07±0.06 <sup>b</sup>	5.68±0.06 <sup>b</sup>	2.17±0.02 <sup>cd</sup>	2.55±0.09 <sup>cd</sup>	76.53±0.07 <sup>e</sup>
Soft wheat	45.25±0.4 <sup>b</sup>	81.65±0.44 <sup>a</sup>	9.44±0.02 <sup>d</sup>	10.81±0.08 <sup>d</sup>	1.92±0.05 <sup>de</sup>	1.77±0.03 <sup>e</sup>	2.28±0.04 <sup>ef</sup>	83.22±0.05 <sup>a</sup>
Durum wheat	53.20±0.05 <sup>a</sup>	81.72±0.04 <sup>a</sup>	9.06±0.10 <sup>e</sup>	12.24±0.12 <sup>c</sup>	1.86±0.02 <sup>e</sup>	1.84±0.09 <sup>e</sup>	2.40±0.05 <sup>de</sup>	81.66±0.17 <sup>b</sup>
Hull-less barley	35.68±0.58 <sup>d</sup>	79.33±0.21 <sup>b</sup>	10.22±0.03 <sup>b</sup>	10.51±0.10 <sup>d</sup>	1.97±0.10 <sup>de</sup>	2.23±0.02 <sup>c</sup>	1.82±0.02 <sup>g</sup>	83.47±0.03 <sup>a</sup>
Hulled barley	44.51±0.52 <sup>b</sup>	76.19±0.03 <sup>c</sup>	9.84±0.05 <sup>c</sup>	11.75±0.05 <sup>c</sup>	2.06±0.13 <sup>d</sup>	2.43±0.05 <sup>b</sup>	2.12±0.18 <sup>f</sup>	81.64±0.06 <sup>b</sup>
Triticale	28.13±0.18 <sup>e</sup>	65.89±0.33 <sup>f</sup>	10.31±0.04 <sup>b</sup>	13.71±0.07 <sup>a</sup>	1.84±0.09 <sup>e</sup>	2.68±0.05 <sup>a</sup>	3.45±0.06 <sup>a</sup>	78.33±0.08 <sup>d</sup>
Millet	9.34±0.53 <sup>g</sup>	81.55±0.06 <sup>a</sup>	10.50±0.02 <sup>a</sup>	10.79±0.04 <sup>d</sup>	6.41±0.02 <sup>a</sup>	2.12±0.06 <sup>d</sup>	2.70±0.10 <sup>bc</sup>	77.98±0.10 <sup>d</sup>
Sorghum	39.03±0.61 <sup>c</sup>	73.62±0.36 <sup>d</sup>	9.85±0.11 <sup>c</sup>	10.42±0.75 <sup>d</sup>	4.05±0.02 <sup>c</sup>	1.76±0.06 <sup>e</sup>	2.76±0.06 <sup>b</sup>	81.01±0.44 <sup>c</sup>

Values are means of three replicates ± standard deviation. Values in the same column followed by different superscripts are significantly different ( $P \leq 0.05$ ). Carbohydrate content is calculated by the difference.

Table 2. Sensory evaluation of the produced flakes from various cereal grains

Таблица 2. Оценка органолептических свойств хлопьев, произведенных из различных злаков

Flake samples	Appearance (9)	Color (9)	Odor (9)	Taste (9)	Mouth feel (9)	OA* (9)	AI** (%)
Commercial oat	8.94±0.33 <sup>a</sup>	8.94±0.00 <sup>a</sup>	8.78±0.35 <sup>a</sup>	8.83±0.33 <sup>a</sup>	8.61±0.65 <sup>a</sup>	8.79±0.22 <sup>a</sup>	97.94
Oat	8.56±0.73 <sup>abc</sup>	8.67±0.56 <sup>a</sup>	8.72±0.78 <sup>a</sup>	8.22±0.86 <sup>bc</sup>	7.83±0.96 <sup>bc</sup>	8.31±0.53 <sup>bc</sup>	93.17
Soft wheat	8.56±0.46 <sup>abc</sup>	8.83±0.35 <sup>a</sup>	8.67±0.73 <sup>a</sup>	7.89±0.83 <sup>bc</sup>	7.81±0.88 <sup>bc</sup>	8.21±0.49 <sup>bc</sup>	92.54
Durum wheat	8.78±0.44 <sup>ab</sup>	8.89±0.33 <sup>a</sup>	8.72±0.44 <sup>a</sup>	8.33±0.35 <sup>abc</sup>	8.11±0.70 <sup>abc</sup>	8.45±0.44 <sup>ab</sup>	94.96
Hull-less barley	8.39±0.93 <sup>bc</sup>	8.44±0.68 <sup>ab</sup>	8.61±0.60 <sup>a</sup>	8.47±0.69 <sup>ab</sup>	8.06±0.76 <sup>abc</sup>	8.37±0.52 <sup>abc</sup>	93.22
Hulled barley	8.06±0.66 <sup>cd</sup>	7.78±0.74 <sup>c</sup>	8.56±0.53 <sup>a</sup>	8.00±0.61 <sup>bc</sup>	7.67±0.43 <sup>c</sup>	7.97±0.39 <sup>c</sup>	88.96
Triticale	8.28±0.71 <sup>bc</sup>	8.08±1.06 <sup>bc</sup>	8.72±0.57 <sup>a</sup>	8.42±0.56 <sup>abc</sup>	8.33±0.90 <sup>ab</sup>	8.37±0.49 <sup>abc</sup>	92.96
Millet	7.56±0.97 <sup>d</sup>	7.61±0.84 <sup>c</sup>	8.33±0.68 <sup>a</sup>	7.83±0.98 <sup>c</sup>	8.17±0.88 <sup>abc</sup>	7.94±0.46 <sup>c</sup>	87.85
Sorghum	8.50±0.71 <sup>abc</sup>	8.56±0.58 <sup>ab</sup>	8.61±0.49 <sup>a</sup>	7.89±0.89 <sup>bc</sup>	7.89±0.74 <sup>bc</sup>	8.22±0.34 <sup>bc</sup>	91.98

Values in the same column followed by different letters indicate a significant difference ( $P \leq 0.05$ ). Liking scale ranged from 1 to 9 for extremely dislike to extremely like, respectively. OA\*: The Overall Acceptability. AI\*\*: the Acceptability Index (%).



the lowest appearance and the less taste values among all flake samples. Similar findings were reported by Cabrera et al. [40], who observed a decreased food acceptability of millet based products. Furthermore, higher scores in mouth feel were observed in commercial oat, hull-less barley, triticale and millet when compared with other flakes ( $P \leq 0.05$ ).

Regarding the overall acceptability, commercial oat, durum wheat, hull-less barley and triticale flakes were preferred over other samples. Meanwhile, hulled barley and millet flakes showed the lowest scores compared with other flake samples. Color is an important sensory parameter that affects the appearance and is used as an index of the acceptability of the product [40]. Consumers mostly prefer flakes to be not sticky or adhering to teeth and should not require much mastication or break down [41]. All the produced flakes were well accepted by the panelists with an acceptability index of more than 87% as shown in Table 2. From the obtained results, it could be concluded that durum wheat, hull-less barley and triticale flakes are the good alternatives to oat flakes with good characteristics due to their highest scores in numerous sensory characteristics compared with commercial oat flakes as a control sample. Although millet flake had the lowest overall score as well as the appearance and color scores, it still has a high acceptability index (87.85%) as shown in Table 2. Nonetheless, millet as well as sorghum can be used as a functional gluten-free alternative to oat, wheat and barley.

Physical and functional characteristics of flakes produced from various cereal grains such as color, density, water activity ( $a_w$ ), RTWAI, HTWAI and rehydration ratio are presented in the Table 3. Color is an essential quality parameter that directly effects on the acceptability of food products. For color parameters, dark whole-grain products are not attractive for the consumers who choose refined products. Results showed that commercial oat flakes showed significantly the highest  $L^*$  and  $b^*$  values, while Sorghum flake has the highest  $a^*$  value compared with the other samples. Hulled barley flake has the lowest  $L^*$  and  $b^*$  values but millet has the lowest  $a^*$  value among all samples.

There was no significant difference in the true density among all produced flakes from various cereal grains and it ranged from 1.10 to 1.27 g/ml. Millet flakes have the highest value of bulk density (0.51 g/ml) meanwhile hulled barley and triticale have the lowest bulk density (0.35 and 0.25 g/ml, respectively). Bulk density is an indicator of flake flatness and it is used as an indication of the storage space required for a definite quantity of various flakes. The lower bulk density indicates the good flaking quality [24].

Water activity is a useful value to predict food safety and quality where it indicates the available amount of water to microorganisms. Water activity of the produced flake samples was varied from 0.31 to 0.43 indicating high storage and microbial stability. Abbas et al. [42] reported that, at a water activity of less than 0.6, the activity and the growth of all microorganisms could be inhibited. There is an increase in the possibility of lipids oxidation, at very low water activity ( $<0.25$ ) [43].

The water absorption index at room temperature (RTWAI) measures the quantity of water absorbed by starch and is used as a starch gelatinization index as native starch does not absorb water at room temperature [44]. RTWAI of oat and triticale flakes was significantly higher compared to other samples ( $P \leq 0.05$ ) as shown in the Table 3. These results might be attributed to the higher content of protein and crude fiber [45]. Significant differences were found in water absorption index at high temperature (HTWAI) of flake samples and ranged from 313.05 to 498.81% for soft wheat and triticale flakes, respectively. The different water absorption index could be attributed to the surface of flakes, which can absorb water into the matrix, differently [46].

Rehydration ratio of flake samples is presented in the Table 3. Results showed no significant differences in rehydration ratio between hulled barley, triticale and millet flakes and they have the highest ratios. On the other hand, soft wheat and durum wheat flakes have the lowest rehydration values among the flake samples. Depending on the physical characteristics of produced flakes from various cereal grains, it could be concluded that durum wheat, sorghum and triticale were the cereal flakes with nearest values to the control sample (commercial oat).

The chemical composition of cereals mainly influences their quality as well as the derived products. The chemical composition of the produced flakes is presented in the Table 4. It could be noticed that commercial oat and triticale flakes had higher protein contents (13.89 and 13.46%, respectively), meanwhile sorghum and hull-less barley had the lowest contents (10.23 and 10.20%, respectively) among all flake samples. Fat content of flakes ranged between 1.55% for hulled barley and 6.22% for commercial oat. Concerning the ash content, it ranged from 1.53% in soft wheat flakes to 2.26% in triticale. Among all flake samples, triticale has the highest fiber content (3.36%). Noticeably, there were no significant differences in the fiber content of commercial oat, hull-less barley and hulled barley and they have lower content compared to other samples. Carbohydrates, as the major components of cereals, were more than 76%

Table 3. Physical and functional characteristics of the produced cereal flakes

Таблица 3. Физические и функциональные характеристики произведенных злаковых хлопьев

Flake samples	Color			Density (g/ml)		Water activity ( $a_w$ )	RTWAI (%)	HTWAI (%)	Rehydration Ratio
	$L^*$	$a^*$	$b^*$	True	Bulk				
Commercial oat	82.58 ± 1.96 <sup>a</sup>	3.22 ± 0.03 <sup>b</sup>	21.23 ± 0.41 <sup>a</sup>	1.16 ± 0.12 <sup>a</sup>	0.44 ± 0.01 <sup>b</sup>	0.52 ± 0.02	112.72 ± 0.62 <sup>f</sup>	351.33 ± 5.83 <sup>g</sup>	1.97 ± 0.08 <sup>c</sup>
Oat	58.09 ± 2.23 <sup>c</sup>	3.09 ± 0.15 <sup>bc</sup>	12.77 ± 0.39 <sup>d</sup>	1.20 ± 0.09 <sup>a</sup>	0.40 ± 0.01 <sup>c</sup>	0.43 ± 0.05	216.49 ± 0.12 <sup>a</sup>	382.05 ± 2.26 <sup>f</sup>	1.98 ± 0.01 <sup>c</sup>
Soft wheat	57.81 ± 2.40 <sup>c</sup>	3.27 ± 0.27 <sup>b</sup>	13.10 ± 0.33 <sup>d</sup>	1.26 ± 0.02 <sup>a</sup>	0.43 ± 0.01 <sup>b</sup>	0.36 ± 0.01	106.60 ± 2.03 <sup>g</sup>	313.05 ± 0.47 <sup>h</sup>	1.66 ± 0.06 <sup>d</sup>
Durum wheat	59.71 ± 0.83 <sup>bc</sup>	3.12 ± 0.21 <sup>bc</sup>	16.20 ± 0.16 <sup>b</sup>	1.26 ± 0.01 <sup>a</sup>	0.40 ± 0.01 <sup>c</sup>	0.37 ± 0.03	122.36 ± 3.97 <sup>e</sup>	351.44 ± 4.09 <sup>g</sup>	1.38 ± 0.16 <sup>d</sup>
Hull-less barley	52.53 ± 1.18 <sup>de</sup>	2.44 ± 0.10 <sup>d</sup>	10.85 ± 0.54 <sup>f</sup>	1.18 ± 0.09 <sup>a</sup>	0.40 ± 0.01 <sup>c</sup>	0.40 ± 0.01	175.03 ± 1.46 <sup>c</sup>	422.94 ± 0.37 <sup>d</sup>	2.43 ± 0.01 <sup>b</sup>
Hulled barley	48.68 ± 1.37 <sup>e</sup>	2.86 ± 0.05 <sup>c</sup>	6.68 ± 0.02 <sup>g</sup>	1.10 ± 0.02 <sup>a</sup>	0.35 ± 0.01 <sup>d</sup>	0.35 ± 0.04	179.44 ± 0.96 <sup>b</sup>	466.33 ± 5.55 <sup>b</sup>	3.43 ± 0.04 <sup>a</sup>
Triticale	56.28 ± 6.64 <sup>cd</sup>	2.46 ± 0.02 <sup>d</sup>	12.97 ± 0.07 <sup>d</sup>	1.19 ± 0.10 <sup>a</sup>	0.25 ± 0.01 <sup>e</sup>	0.34 ± 0.01	215.22 ± 0.67 <sup>a</sup>	498.81 ± 3.58 <sup>a</sup>	3.41 ± 0.26 <sup>a</sup>
Millet	56.15 ± 1.41 <sup>cd</sup>	2.10 ± 0.06 <sup>e</sup>	11.70 ± 0.36 <sup>e</sup>	1.27 ± 0.01 <sup>a</sup>	0.51 ± 0.01 <sup>a</sup>	0.31 ± 0.03	125.50 ± 0.37 <sup>e</sup>	409.68 ± 4.81 <sup>e</sup>	3.23 ± 0.17 <sup>a</sup>
Sorghum	64.02 ± 1.77 <sup>b</sup>	3.62 ± 0.27 <sup>a</sup>	13.78 ± 0.28 <sup>c</sup>	1.19 ± 0.10 <sup>a</sup>	0.40 ± 0.01 <sup>c</sup>	0.39 ± 0.02	164.85 ± 3.61 <sup>d</sup>	443.38 ± 5.59 <sup>c</sup>	2.71 ± 0.06 <sup>b</sup>

Values are means of three replicates ± standard deviation. Values in the same column followed by different superscripts are significantly different ( $P \leq 0.05$ ). RTWAI: room temperature water absorption index; HTWAI: high temperature water absorption index.

Table 4. Chemical composition of the flakes produced from various cereal grains

Таблица 4. Химический состав различных цельнозерновых хлопьев

Flake samples	Moisture (%)	Protein (%)	Fat (%)	Ash (%)	Crude fiber (%)	Carbohydrate content (%)	Energy (Kcal)
Commercial oat	8.53 ± 0.23 <sup>a</sup>	13.89 ± 0.02 <sup>a</sup>	6.22 ± 0.03 <sup>a</sup>	2.13 ± 0.01 <sup>a</sup>	1.70 ± 0.02 <sup>e</sup>	76.06 ± 0.63 <sup>b</sup>	416.43 ± 1.13 <sup>b</sup>
Oat	7.88 ± 0.08 <sup>b</sup>	12.98 ± 0.09 <sup>c</sup>	5.45 ± 0.06 <sup>c</sup>	1.78 ± 0.06 <sup>b</sup>	2.41 ± 0.03 <sup>bc</sup>	77.38 ± 0.04 <sup>g</sup>	408.53 ± 0.73 <sup>c</sup>
Soft wheat	5.39 ± 0.19 <sup>d</sup>	10.46 ± 0.10 <sup>f</sup>	1.84 ± 0.04 <sup>e</sup>	1.53 ± 0.06 <sup>c</sup>	2.17 ± 0.07 <sup>d</sup>	84.01 ± 0.05 <sup>b</sup>	393.75 ± 0.80 <sup>c</sup>
Durum wheat	5.28 ± 0.09 <sup>d</sup>	11.92 ± 0.20 <sup>d</sup>	1.77 ± 0.09 <sup>ef</sup>	1.64 ± 0.09 <sup>bc</sup>	2.24 ± 0.02 <sup>cd</sup>	82.42 ± 0.05 <sup>d</sup>	393.09 ± 0.11 <sup>e</sup>
Hull-less barley	4.97 ± 0.04 <sup>e</sup>	10.20 ± 0.12 <sup>f</sup>	1.55 ± 0.08 <sup>g</sup>	1.78 ± 0.04 <sup>b</sup>	1.69 ± 0.11 <sup>e</sup>	84.78 ± 0.10 <sup>a</sup>	394.31 ± 0.04 <sup>e</sup>
Hulled barley	5.29 ± 0.05 <sup>c</sup>	11.67 ± 0.05 <sup>d</sup>	1.75 ± 0.01 <sup>ef</sup>	2.08 ± 0.15 <sup>a</sup>	1.83 ± 0.02 <sup>e</sup>	82.67 ± 0.11 <sup>c</sup>	394.41 ± 0.61 <sup>e</sup>
Triticale	4.87 ± 0.14 <sup>e</sup>	13.46 ± 0.04 <sup>b</sup>	1.70 ± 0.03 <sup>f</sup>	2.26 ± 0.13 <sup>a</sup>	3.36 ± 0.23 <sup>a</sup>	79.22 ± 0.16 <sup>f</sup>	386.43 ± 1.15 <sup>f</sup>
Millet	4.36 ± 0.01 <sup>f</sup>	10.73 ± 0.18 <sup>e</sup>	5.81 ± 0.04 <sup>b</sup>	1.76 ± 0.07 <sup>b</sup>	2.33 ± 0.02 <sup>cd</sup>	79.37 ± 0.18 <sup>f</sup>	418.33 ± 0.07 <sup>a</sup>
Sorghum	4.57 ± 0.08 <sup>f</sup>	10.23 ± 0.11 <sup>f</sup>	3.52 ± 0.10 <sup>d</sup>	1.60 ± 0.03 <sup>bc</sup>	2.56 ± 0.07 <sup>b</sup>	82.09 ± 0.11 <sup>e</sup>	399.92 ± 0.55 <sup>d</sup>

Values are means of three replicates ± standard deviation, values in the same column followed by different superscripts are significantly different ( $p \leq 0.05$ ). Carbohydrates content was calculated by difference.

and ranged from 76.06% in commercial oat flakes to 84.78% in hull-less barley flakes. It was observed that all the flake samples exhibited significantly lower protein, fat, ash and crude fiber (Table 4) than the native grains (Table 1) which could be due to the processing treatment used for flakes production [47,48]. The lower fat content of flakes compared to grains was attributed to the amylose-lipid complex formation which has lower extractability [49].

The calculated energy values of flakes are shown in the Table 4 and they ranged from (418.33 kcal) in millet to (386.43 kcal) in triticale. From the above results, it could be concluded that triticale, durum wheat, and hulled barley are the good cereals to prepare the flakes of high characteristics, as they have high protein and ash contents, low fat and low calories content.

The content of total dietary fiber in the flake samples is shown in the Figure 2. Previous studies indicated that ready-to-eat cereal consumption may increase fiber intake and lead to a high nutritional quality of the whole diet [50]. The obtained results indicated that triticale, hulled barley and hull-less barley flakes have higher contents of TDF among all flake samples (22.38, 21.33 and 20.01%, respectively). Meanwhile, millet, commercial oat and sorghum flakes have less TDF contents (12.72, 13.57 and 15.55%, respectively) compared to other flake samples. These results were in agreement with the reported result of Prasad and Joye [9].

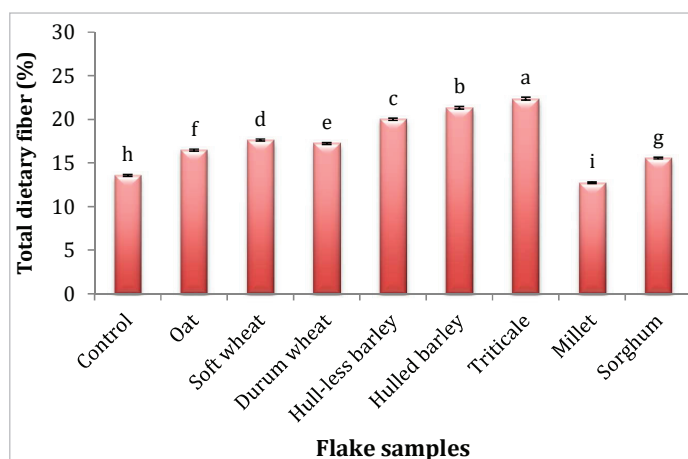
The mineral contents of flakes from various cereal grains were determined and are shown in the Table 5. There was a wide range of mineral contents in various cereal flakes.

Table 5. Mineral contents (mg/100g) and RDA\* (mg/day) of the produced cereal flakes

Таблица 5. Содержание минеральных веществ (мг/100 г) и рекомендуемая суточная норма потребления\* (мг/день) в произведенных зерновых хлопьях

Flake samples	Mineral contents (mg/100g)						
	Macroelements				Microelements		
	Mg	K	P	Ca	Mn	Zn	Fe
Commercial oat	118	210	370	48	3.5	2.1	3.9
Oat	138	196	380	49	3.62	1.8	3.8
Soft wheat	85	365	290	39	3.2	3.1	2.9
Durum wheat	95	220	185	27	4.32	2.7	2.6
Hull-less barley	96	380	260	41	2.0	2.26	4.7
Hulled barley	102	330	275	45	2.2	2.17	5.1
Triticale	93	390	360	64	2.4	2.9	3.4
Millet	128	260	286	37	2.80	4.8	5.7
Sorghum	120	370	352	16	1.50	2.7	4.2
RDA*	320 <sup>f</sup> -420 <sup>m</sup>	---	700 <sup>f,m</sup>	1000 <sup>f,m</sup>	---	8 <sup>f</sup> -11 <sup>m</sup>	8 <sup>m</sup> -18 <sup>f</sup>

\*RDA: Recommended Dietary Allowance (mg/day) according to DGA (2020–2025) [51]. The superscripts (<sup>f</sup> and <sup>m</sup>) is the RDA for females and males, respectively.



Data are expressed as means  $\pm$  standard deviation and the different letters are significantly different at 0.05 level.

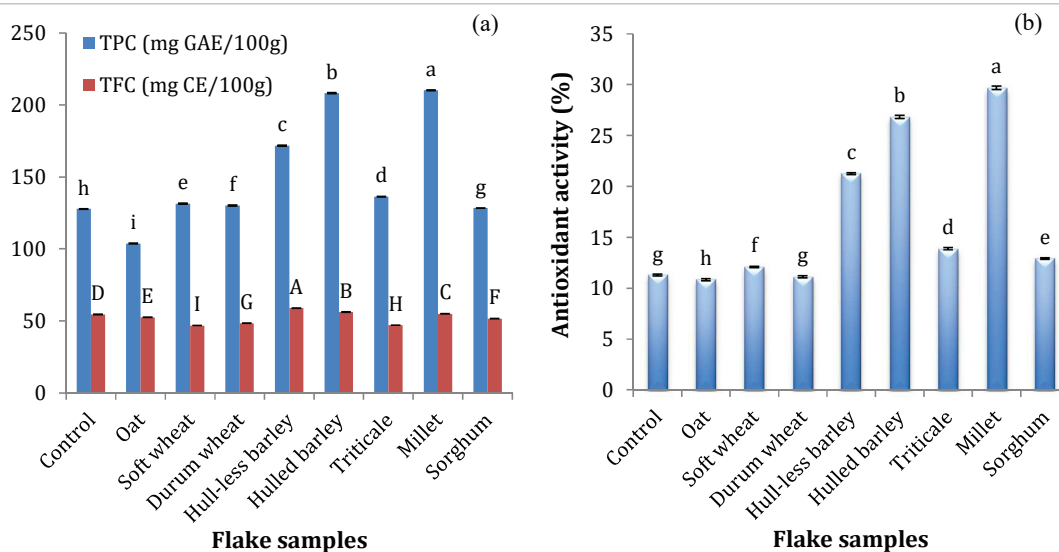
Figure 2. The total dietary fiber content of the produced cereal flakes. Control: commercial oat flakes

Рисунок 2. Общее содержание пищевых волокон в произведенных зерновых хлопьях. Контрольный образец: покупной овес

Among all flake samples, oat had the highest Mg and P content, durum wheat showed highest Mn content, triticale had the highest K and Ca content, and millet had the highest level of Zn and Fe. The results of the present study are consistent with other previous works [10,22].

Dietary intakes of minerals in flakes were estimated and compared with the Recommended Dietary Allowance of daily (RDA) values for adult females and males aged 31–50 (Table 5). Comparing the RDA macroelements and microelements, it could be concluded that most cereal flakes (100 g) contribute more than 24–43% for males and females, respectively of the Mg RDA. Furthermore, all the produced flakes except durum wheat can supply around 40–55% of the phosphorous RDA. Additionally, about 44–60% (for males and females, respectively) of the Zn RDA can be obtained by 100 g of millet flakes. Concerning the iron content, 100 g of millet, hulled and hull-less barley could provide about 50% of RDA of iron.

Generally, whole grains contain various phytochemicals depending on the cereal type and how the grains have been processed [7]. Phytochemical properties such as total phenolic content (TPC), total flavonoid content (TFC) and antioxidant activity (DPPH) of flake samples are shown in the Figure 3. According to Nani et al. [52], phenolic compounds (phenolic acids and flavonoids) in whole grains have an immunosuppressive effect that can be used as dietary supplements for autoimmune disease treatment. Beneficially, it is better to consume whole grains or



Data are expressed as means  $\pm$  standard deviation and the different letters are significantly different at 0.05 level.

Figure 3. Phytochemical properties of the produced cereal flakes. Control: commercial oat flakes.

(a): TPC and TFC and (b): Antioxidant activity of flake samples

Рисунок 3. Фитохимические свойства произведенных зерновых хлопьев. Контрольный образец: покупной овес.

(a): TPC (общее содержание фенолов) и TFC (общее содержание флавоноидов), и (b): Антиоксидантная активность образцов хлопьев

bran because phenolic compounds are not equally distributed in the grain but are mainly found in the pericarp [53]. Concerning the TPC, there was differentiation among all flake samples and it varied from 103.77 mg GAE/100g for oat flakes to 210.20 mg GAE/100 g for millet flakes. Hull-less barley flakes contained the highest value (58.86 mg CE/100 g) of TFC while the soft wheat had the lowest value (46.81 mg CE/100 g).

The DPPH method is efficiently used to determine the antioxidant activity [54]. The antioxidant activity of the flake samples was detected by the evaluation of the free radical scavenging effect on the 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) radical. The results revealed that the antioxidant activity of various flakes was ranged from 10.83% for oat flakes to 29.70% for millet. Also, the results showed that all flake samples except durum wheat had higher antioxidant activity values compared to both commercial oat and oat flakes as control samples.

#### 4. Conclusion

Whole grain products are considered as health-beneficial ingredients that should be consumed regularly. They contain flavor-active compounds and cell wall structures which may affect the flavor and texture attributes as well as the consumers' acceptance. Concerning the nutritional quality of the produced cereal flakes, they have various contents of minerals and phytochemicals. Oat flakes have higher Mg and P content, durum wheat show higher Mn content, triticale has the highest K and Ca content, and millet has the highest level of Zn and Fe. Triticale flakes has significantly higher dietary fibers and water absorption index compared with the other flakes. The sensory characteristics of all the produced flake samples in the present study are favorably accepted with more than 87% acceptability index. Wheat, barley, triticale, millet and sorghum grains could be used as oat alternatives to produce promoting, functional and ready-to-eat cereal flakes with various characteristics. Fortunately, millet and sorghum flakes are functionally gluten-free alternatives to the oat flakes.

#### REFERENCES

- Wang, J., Chatzidimitriou, E., Wood, L., Hasanaliyeva, G., Markellou, E., Iversen, P.O. et al. (2020). Effect of wheat species (*Triticum aestivum* vs. *T. spelta*), farming system (organic vs. conventional) and flour type (wholegrain vs. white) on composition of wheat flour—Results of a retail survey in the UK and Germany-2. Antioxidant activity and phenolic and mineral content. *Food Chemistry: X*, 6, Article 100091. <https://doi.org/10.1016/j.fchx.2020.100091>
- Mathebula, M. W., Mandiwana, K., Panichev, N. (2017). Speciation of chromium in bread and breakfast cereals. *Food Chemistry*, 217, 655–659. <http://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.09.020>
- Barton, B. A., Eldridge, A. L., Thompson, D., Affenito, S. G., Striegel-Moore, R. H., Franko, D. L. et al. (2005). The relationship of breakfast and cereal consumption to nutrient intake and body mass index: The National Heart, Lung, and Blood Institute growth and health study. *Journal of the American Dietetic Association*, 105(9), 1383–1389. <https://doi.org/10.1016/j.jada.2005.06.003>
- Guo, H., Wu, H., Sajid, A., Li, Z. (2021). Whole grain cereals: The potential roles of functional components in human health. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 62(30), 8388–8402. <https://doi.org/10.1080/10408398.2021.1928596>
- Sinković, L., Rakszegi, M., Pipan, B., Meglič, V. (2023). Compositional traits of grains and groats of barley, oat and spelt grown at organic and conventional fields. *Foods*, 12(5), Article 1054. <https://doi.org/10.3390/foods12051054>
- Lutsey, P. L., Jacobs, Jr, D. R., Kori, S., Mayer-Davis, E., Shea, S., Steffen, L.M. et al. (2007). Whole grain intake and its cross-sectional association with obesity, insulin resistance, inflammation, diabetes and subclinical CVD: The MESA study. *British Journal of Nutrition*, 98(2), 397–405. <https://doi.org/10.1017/S0007114507700715>
- Belobrajdic, D. P., Bird, A. R. (2013). The potential role of phytochemicals in wholegrain cereals for the prevention of type-2 diabetes. *Nutrition Journal*, 12, Article 62. <https://doi.org/10.1186/1475-2891-12-62>
- Knudsen, K. E. B. (2014). Fiber and nonstarch polysaccharide content and variation in common crops used in broiler diets. *Poultry Science*, 93(9), 2380–2393. <http://doi.org/10.3382/ps.2014-03902>
- Prasadi, N. V. P., Joye, I. J. (2020). Dietary fibre from whole grains and their benefits on metabolic health. *Nutrients*, 12(10), Article 3045. <http://doi.org/10.3390/nu12103045>
- Biel, W., Kazimierska, K., Bashutska, U. (2020) Nutritional value of wheat, triticale, barley and oat grains. *Acta Scientiarum Polonorum Zootechnica*, 19(2), 19–28. <https://doi.org/10.21005/asp.2020.19.2.03>
- Giuntini, E. B., Sardá, F. A. H., de Menezes, E. W. (2022). The effects of soluble dietary fibers on glycemic response: An overview and futures perspectives. *Foods*, 11(23), Article 3934. <https://doi.org/10.3390/foods11233934>
- Kupaeva, N. V., Iliina, M. A., Svetlichnaya, M. V., Zubarev, Yu. N. (2022). Study of the antioxidant potential of oat drinks enriched with plant components. *Food Systems*, 5(2), 157–163. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2022-5-2-157-163> (In Russian)
- Gaikwad, V., Rasane, P., Singh, J., Idate, A., Kumthekar, S. (2021). Millets: Nutritional potential and utilization. *The Pharma Innovation Journal*, 10(5), 310–313. <http://doi.org/10.22271/tpi.2021.v10.i5e.6225>
- Widowati S., Luna P. (October 12–14, 2021). *Nutritional and functional properties of sorghum (Sorghum bicolor (L.) Monech)- based products and potential Valorisation of sorghum bran*. IOP Conference Series: Earth and Environmental Science, Volume 1024, The 3rd International Conference on Agricultural Postharvest Handling and Processing. Bogor, Indonesia. 2021. <http://doi.org/10.1088/1755-1315/1024/1/012031>
- Dias-Martins, A. M., Pessanha, K. L. F., Pacheco, S., Rodrigues, J. A. S., Carvalho, C. W. P. (2018). Potential use of pearl millet (*Pennisetum glaucum* (L.) R. Br.) in Brazil: Food security, processing, health benefits and nutritional products. *Food Research International*, 109, 175–186. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2018.04.023>
- Van der Kamp, J. W., Poutanen, K., Seal, C. J., Richardson, D. P. (2014). The HEALTHGRAIN definition of 'whole grain'. *Food and Nutrition Research*, 58, Article 22100. <https://doi.org/10.3402/fnr.v58.22100>
- Rao, D. B., Malleshi, N. G., Annor, G. A., Patil, J. V. (2016). Millets Value Chain for Nutritional Security: A Replicable Success Model from India. CAB. 2016.
- Gowda, N. A. N., Siliveru, K., Prasad, P. V. V., Bhatt, Y., Netravati, B. P., Gurikar, C. (2022). Modern processing of indian millets: A perspective on changes in nutritional properties. *Foods*, 11(4), Article 499. <https://doi.org/10.3390/foods11040499>
- Caldwell, E. F., McKeen, J. D., Kadan, R. S. (2016). Cereals: Breakfast Cereals. Chapter in a book: *Encyclopedia of Food Grains*. Academic Press. 2016.
- Kaur, K. D., Alok, J., Sabikhi, L., Singh, A. K. (2014). Significance of coarse cereals in health and nutrition: A review. *Journal of Food Science and Technology*, 51(8), 1429–1441. <https://doi.org/10.1007/s13197-011-0612-9>
- Hu, X.-Z., Zheng, J.-M., Li, X.-P., Xu, C., Zhao, Q. (2014). Chemical composition and sensory characteristics of oat flakes: A comparative study of naked oat flakes from China and hulled oat flakes from western countries. *Journal of Cereal Science*, 60(2), 297–301. <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2014.05.015>
- Kruma, Z., Straumite, E., Kinca, T., Klava, D., Abelniece, K., Balgalve, A. (2018). Influence of technological parameters on chemical composition of triticale flakes. *Agronomy Research*, 16(S2), 1417–1424. <https://doi.org/10.1515/AR.18.109>
- AACC (2010). *Approved Methods of the American Association of Cereal Chemists*. St. Paul Minnesota, USA, 2010.
- Takkhambam, R. D., Chimmad, B. V., Prkasam, J. N. (2016). Ready-to-cook millet flakes based on minor millets for modern Consumer. *Journal of Food Science and Technology*, 53(2), 1312–1318. <https://doi.org/10.1007/s13197-015-2072-0>
- Patil, K., Chimmad, B. (2016). Physical, functional, nutrient and sensory characteristics of ready to eat flakes of little millet (*Panicum miliare* L.). *Green Farming*, 7(3), 725–728.
- McCurie, R. G. (1992). Reporting of objective color measurements. *Hort Science*, 27, 1254–1255. <https://doi.org/10.21273/HORTSCI.27.12.1254>
- Akaaimo, D. I., Raji, A. O. (2006). Some physical and engineering properties of *prosois africana* seed. *Biosystems Engineering*, 95(2), 197–205. <https://doi.org/10.1016/j.biosystemseng.2006.06.005>
- Mwithiga, G., Sifuna, M. M. (2006). Effect of moisture content on the physical properties of three varieties of sorghum seeds. *Journal of Food Engineering*, 75(4), 480–486. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2005.04.053>
- Yağci, S., Göğüş, F. (2008). Response surface methodology for evaluation of physical and functional properties of extruded snack foods developed from food-by-products. *Journal of Food Engineering*, 86, 122–132. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2007.09.018>
- Huang, L. L., Zhang, M., Yan, W. Q., Mujumdar, A. S., Sun, D. F. (2009). Effect of coating on post-drying of freeze-dried strawberry pieces. *Journal of Food Engineering*, 92(1), 107–111. <http://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2008.10.031>
- AOAC. (2019). *Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists International*. 21<sup>st</sup> Ed. Washington, DC, 2019.
- AOAC. (2016). *Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists International*. 20<sup>th</sup> Ed. Association of Official Analytical Chemists. (Ed. George, W. Latimer), Gaithersburg, Maryland, USA, 2016.
- Singleton, V. L., Rossi, J. A. (1965). Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American Journal of Enology and Viticulture*, 16, 144–158. <https://doi.org/10.5344/ajev.1965.16.3.144>
- Eghdami, A., Sadeghi, F. (2010). Determination of total phenolic and flavonoids contents in methanolic and aqueous extract of *Achillea millefolium*. *Journal of Organic Chemistry*, 2, 81–84.
- Fischer, S., Wilckensa, R., Jara, J., Aranda, M. (2013). Variation in antioxidant capacity of quinoa (*Chenopodium quinoa* Will.) subjected to drought stress. *Industrial Crops and Products*, 46, 341–349. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2013.01.037>
- Glamočlija, N., Starcevic, M., Ćirici, J., Šefer, D., Glišići, M., Baltić, M. Ž. et al. (2018). The importance of triticale in animal nutrition. *Veterinary Journal of Republic of Srpska*, XVIII(1), 73–94. <https://doi.org/10.7251/VETJEN1801073G>
- Taylor, J. R., Emmambux, M. N. (2008). Gluten-free foods and beverages from millets. Chapter in a book: *Gluten-Free Cereal Products and Beverages*. Academic Press, 2008. <https://doi.org/10.1016/B978-012375739-7.50008-5>
- Bhasin, T. (2020). Sensory characteristics of wholegrain. *Advances in Obesity, Weight Management and Control*, 10(6), 191–194. <https://doi.org/10.15406/aowmc.2020.10.00527>
- Lapveteläinen, A., Alho-Lehto, P., Sinn, L., Laukkanen, T., Lindman, T., Kallio, H. et al. (2001). Relationships of selected physical, chemical, and sensory parameters in oat grain, rolled oats, and cooked oatmeal — A three-year study with eight cultivars. *Cereals Chemistry*, 78(3), 322–329. <https://doi.org/10.1094/CHEM.2001.78.3.322>
- Cabrera, A. P. P., Salinasal, J. C. A., Abello, N. F. H. (2022). Quality evaluation of millet (*Panicum miliaceum*) instant cereal product in Cebu, Philippines. *Food Research*, 6(2), 225–230. [http://doi.org/10.26656/fr.2017.6\(2\).242](http://doi.org/10.26656/fr.2017.6(2).242)

41. Kälviäinen, N., Salovaara, H., Tuorila, H. (2002). Sensory attributes and preference mapping of muesli oat flakes. *Journal of Food Science*, 67(1), 455–460. <http://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2002.tb11428.x>
42. Abbas, K. A., Saleh, A. M., Mohamed, A., Lasekan, O. (2009). The relationship between water activity and fish spoilage during cold storage: A review. *Journal of Food, Agriculture and Environment*, 7(3&4), 86–90.
43. Jensen, P. N., Risbo, J. (2007). Oxidative stability of snack and cereal products in relation to moisture sorption. *Food Chemistry*, 103(3), 717–724. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2006.09.012>
44. Seth, D., Rajamanickam, G. (2012). Development of extruded snacks using soy, sorghum, millet and rice blend — a response surface methodology approach. *International Journal of Food Science and Technology*, 47(7), 1526–1531. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2012.03001.x>
45. Martinez-Bustos, F., Viveros-Contreras, R., Galicia-Garcia, T., Nabeshima, E. H., Verdalet-Guzman, I. (2011). Some functional characteristics of extruded blends of fiber from sugarcane bagasse, whey protein concentrate, and corn starch. *Food Science and Technology (Campinas)*, 31(4), 870–878. <https://doi.org/10.1590/S0101-20612011000400007>
46. Roopa, S., Premavalli, K. S. (2008). Effect of processing on starch fractions in different varieties of finger millet. *Food Chemistry*, 106(3), 875–882. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2006.08.035>
47. Nour, A. A. M., Ahmed, I. A. M., Babiker, E. E., Ibrahim, M. A. E. M. (2015). Effect of supplementation and cooking on in vitro protein digestibility and anti-nutrients of pearl millet flour. *American Journal of Nutrition and Food Science*, 1(3), 69–75.
48. Beniwal, S. K., Devi, A., Sindhu, R. (2019). Effect of grain processing on nutritional and physico-chemical, functional and pasting properties of amaranth and quinoa flours. *Indian Journal of Traditional Knowledge*, 18(3), 500–507. <https://doi.org/10.56042/ijtk.v18i3.26735>
49. El-Samahy, E. S. K., El-Hady, E. A. A., Habiba, R. A., Moussa-Ayoub, T. E. (2007). Some functional, chemical and sensory characteristics of cactus pear rice based extrudates. *Journal of the Professional Association for Cactus Development*, 9, 136–147.
50. Albertson, A. M., Wold, A. C., Joshi, N. (2012). Ready-to-eat cereal consumption patterns: The relationship to nutrient intake, whole grain intake, and body mass index in an older American population. *Journal of Aging Research*, 2012, Article 631310. <https://doi.org/10.1155/2012/631310>
51. U. S. Department of Agriculture and U. S. Department of Health and Human Services. Dietary Guidelines for Americans, 2020–2025. 9th Edition. Washington, DC: US Government Publishing Office, 2020.
52. Nani, A., Belarbi, M., Ksouri-Megdiche, W., Abdoul-Azize, S., Benammar, C., Ghiringhelli, F. et al. (2015). Effects of polyphenols and lipids from Pennisetum glaucum grains on T-cell activation: Modulation of Ca<sup>2+</sup> and ERK1/ERK2 signaling. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 15(1), Article 426. <https://doi.org/10.1186/s12906-015-0946-3>
53. Chandrasekara, A., Shahidi, F. (2011). Bioactivities and antiradical properties of millet grains and hulls. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59(17), 9563–9571. <https://doi.org/10.1021/jf201849d>
54. Scherer, R., Godoy, T. (2009). Antioxidant activity index (AAI) by the 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl method. *Food Chemistry*, 112(3), 654–658. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.06.026>

AUTHOR INFORMATION	СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ
<b>Affiliation</b>	<b>Принадлежность к организации</b>
<p><b>Wafaa K. Galal</b>, PhD Degree, Professor, Crops Technology Research Department, Food Technology Research Institute, Agricultural Research Center 9 Algamaa street, 12619, Giza, Egypt Tel.: +2-0122-127-66-62 E mail: wafaakamalgalal11@gmail.com ORCID: <a href="https://orcid.org/0009-0005-4718-178X">https://orcid.org/0009-0005-4718-178X</a></p> <p><b>Reham S. Abd El-Salam</b>, PhD Degree, Researcher, Crops Technology Research Department, Food Technology Research Institute, Agricultural Research Center 9 Algamaa street, 12619, Giza, Egypt Tel.: +2-0111-849-02-90 E mail: remassayed2010@gmail.com ORCID: <a href="https://orcid.org/0009-0007-3544-6925">https://orcid.org/0009-0007-3544-6925</a> * corresponding author</p> <p><b>Asmaa M. Marie</b>, PhD Degree, Researcher, Crops Technology Research Department, Food Technology Research Institute, Agricultural Research Center 9 Algamaa street, 12619, Giza, Egypt Tel.: +2-0114-283-33-11 E mail: asmamarie@yahoo.com ORCID: <a href="https://orcid.org/0000-0002-8168-9529">https://orcid.org/0000-0002-8168-9529</a> * corresponding author</p>	<p><b>Галал В. К.</b> — кандидат технических наук, профессор, Отдел исследований технологии выращивания сельскохозяйственных культур, Научно-исследовательский институт пищевых технологий, Центр сельскохозяйственных исследований 12619, Египет, Гиза, ул. Гамаа, 9 Тел.: +2-0122-127-66-62 E mail: wafaakamalgalal11@gmail.com ORCID: <a href="https://orcid.org/0009-0005-4718-178X">https://orcid.org/0009-0005-4718-178X</a></p> <p><b>Абд Эль-Салам Р. С.</b> — кандидат технических наук, научный сотрудник, Отдел исследований технологии выращивания сельскохозяйственных культур, Научно-исследовательский институт пищевых технологий, Центр сельскохозяйственных исследований 12619, Египет, Гиза, ул. Гамаа, 9 Тел.: +2-0111-849-02-90 E mail: remassayed2010@gmail.com ORCID: <a href="https://orcid.org/0009-0007-3544-6925">https://orcid.org/0009-0007-3544-6925</a> * автор для контактов</p> <p><b>Мари А. М.</b> — кандидат технических наук, научный сотрудник, Отдел исследований технологии выращивания сельскохозяйственных культур, Научно-исследовательский институт пищевых технологий, Центр сельскохозяйственных исследований 12619, Египет, Гиза, ул. Гамаа, 9 Тел.: +2-0114-283-33-11 E mail: asmamarie@yahoo.com ORCID: <a href="https://orcid.org/0000-0002-8168-9529">https://orcid.org/0000-0002-8168-9529</a> * автор для контактов</p>
<b>Contribution</b>	<b>Критерии авторства</b>
Authors equally relevant to the writing of the manuscript, and equally responsible for plagiarism.	Авторы в равных долях имеют отношение к написанию рукописи и одинаково несут ответственность за плагиат.
<b>Conflict of interest</b>	<b>Конфликт интересов</b>
The authors declare no conflict of interest.	Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

DOI: <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2024-7-1-91-98>



Received 12.12.2023

Accepted for revised 12.03.2024

Accepted for publication 15.03.2024

© Saalieva A. N., Usubalieva A. M., Musulmanova M. M., 2024

Available online at <https://www.fsjour.com/jour>

Review article

Open access

## FEEDING RATION OF YAKS OF THE KYRGYZ POPULATION AND ITS INFLUENCE ON THE BIOCHEMICAL COMPOSITION OF MILK

Altynai N. Saalieva<sup>1,\*</sup>, Aigul M. Usubalieva<sup>2</sup>, Mukarama M. Musulmanova<sup>1</sup>

<sup>1</sup> I. Razzakov Kyrgyz State Technical University, Bishkek, Kyrgyz Republic

<sup>2</sup> Kyrgyz-Turkish Manas University, Bishkek, Kyrgyz Republic

### KEY WORDS:

yak milk, protein fractions, casein, whey proteins, amino acid composition, season, ration

### ABSTRACT

Yaks are the large herbivorous ruminants that live in high mountain pastures at altitudes from 2,000 to 4,000 m above sea level. This environment is quite harsh, and yaks calmly tolerate extreme cold — down to minus 40 °C. The main food of yaks are herbaceous plants, the vegetation season of which in a cold mountain climate is short, about 3–4 months, and therefore they feed mostly on wilted pasture, which is, in principle, sufficient for these animals. At the end of winter, when the amount of pasture feed decreases, the animals become malnourished and lose weight. Therefore, yak farmers often face the need to feed their animals in winter. A complete ration of an animal, along with other factors, has a significant impact on the composition of milk and its productive ability. The aim of the work is to study the chemical composition, in particular the protein fraction, of the milk of yaks living in the mountainous regions of Kyrgyzstan in comparison with the milk of yaks from different regions of the world. The object of the study was milk of yaks inhabiting the highland regions of Naryn province of Kyrgyzstan. Samples were collected and tested according to standard methods. Studies have shown that the milk of yaks from the Kyrgyz population contains more protein (5.66%) than milk from yaks in the mountains of China, Russia and Mongolia (4.95, 4.55 and 5.3%, respectively). Milk we studied is high in amino acids such as methionine, lysine, proline, phenylalanine, and alanine. Seasonal (spring, summer) changes in the protein composition (whey proteins, casein proteins), amino acid profile, total nitrogen, non-protein nitrogen of yak milk were also studied. The total content of amino acids in the milk of Kyrgyz female yaks is noticeably higher in spring (6189.96 mg/100 g) than in summer (5101.47 mg/100 g). The research results presented in this article showed that the milking season and the associated feeding ration of yaks affects the composition of milk, which is associated with the nutritional value of grass feed and its nutrient content. Spring milk contains more proteins and amino acids than summer milk, which is due to the high protein content of plants in the spring period before the flowering phase. Milk of Kyrgyz yak with proven high nutritional and biological value is an alternative to cow milk.

FUNDING: The work was carried out within the framework of a project funded by the Ministry of Education and Science of the Kyrgyz Republic (Project No. 007652).

ACKNOWLEDGEMENTS: The authors are grateful to Doctor of Technical Sciences, Academician of the Russian Academy of Sciences Aram G. Galstyan (Director of the All-Russian Scientific Research Institute of Dairy Industry) and Candidate of Technical Sciences Elena A. Yurova (Head of the Laboratory of Technochemical Control of the All-Russian Scientific Research Institute of Dairy Industry) for their assistance in the research.

Поступила 12.12.2023

Поступила после рецензирования 12.03.2024

Принята в печать 15.03.2024

© Саалиева А. Н., Усубалиева А. М., Мусульманова М. М., 2024

<https://www.fsjour.com/jour>

Обзорная статья

Open access

## РАЦИОН КОРМЛЕНИЯ ЯКОВ КЫРГЫЗСКОЙ ПОПУЛЯЦИИ И ЕГО ВЛИЯНИЕ НА БИОХИМИЧЕСКИЙ СОСТАВ МОЛОКА

Саалиева А. Н.<sup>1,\*</sup>, Усубалиева А. М.<sup>2</sup>, Мусульманова М. М.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Кыргызский государственный технический университет им. И. Раззакова, Бишкек, Кыргызская Республика

<sup>2</sup> Кыргызско-Турецкий университет «Манас», Бишкек, Кыргызская Республика

### КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: АННОТАЦИЯ

молоко яка, фракции белков, казеин, сывороточные белки, аминокислотный состав, сезон, корм

Яки — крупные травоядные жвачные животные, обитающие на высокогорных пастбищах на высоте от 2000 до 4000 м над уровнем моря. Эта среда достаточно суровая, и яки спокойно переносят экстремальные холода — до минус 40 °C. Основной пищей яков являются травянистые растения, вегетационный период которых в холодном горном климате короткий, примерно 3–4 месяца, в связи с чем они питаются большей частью увядшим подножным кормом, что в принципе достаточно для этих животных. В конце зимы, когда количество подножного корма уменьшается, животные недоедают и теряют в весе. Поэтому перед яководами часто возникает необходимость зимней подкормки животных. Полноценный рацион животного, наряду с другими факторами, оказывает существенное влияние на его продуктивную способность и состав молока. Цель работы — исследование химического состава, в частности белковой фракции, молока якоматок, обитающих в горных регионах Кыргызстана, в сравнении с молоком ячих разных регионов мира. Объектом исследования являлось молоко ячих, обитающих в высокогорных регионах Нарынской области Кыргызстана. Сбор проб и исследования проводили в соответствии со стандартными методами. Исследования показали, что в молоке якоматок кыргызской популяции содержится больше белка (5,66%), по сравнению с молоком животных, обитающих в горах Китая, России и Монголии (4,95, 4,55 и 5,3% соответственно). В исследованном нами молоке высокое содержание аминокислот, таких как метионин, лизин, пролин, фенилаланин и аланин. Также изучены сезонные (весна, лето) изменения белкового состава (сывороточные белки, казеиновые белки), аминокислотного профиля, общего азота, небелкового азота якоматок. Суммарное содержание аминокислот в молоке яков кыргызской популяции заметно выше в весеннее время (6189,96 мг/100 г),

FOR CITATION: Saalieva, A. N., Usubalieva, A. M., Musulmanova, M. M. (2024). Feeding ration of yaks of the Kyrgyz population and its influence on the biochemical composition of milk. *Food Systems*, 7(1), 91–98. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2024-7-1-91-98>

Для цитирования: Саалиева, А. Н., Усубалиева, А. М., Мусульманова, М. М. (2024). Рацион кормления яков кыргызской популяции и его влияние на биохимический состав молока. *Пищевые системы*, 7(1), 91–98. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2024-7-1-91-98>

чем летом (5101,47 мг/100 г). Результаты исследований, приведенные в данной статье, показали, что сезон удоя и связанный с ним рацион питания ячих влияет на состав молока, что связано с питательностью травяного корма и содержанием в нем нутриентов.

**ФИНАНСИРОВАНИЕ:** Работа выполнена в рамках проекта, финансируемого Министерством образования и науки Кыргызской Республики (проект № 007652).

**БЛАГОДАРНОСТИ:** Авторы выражают благодарность доктору технических наук, академику РАН, директору Всероссийского научно-исследовательского института молочной промышленности Галстяну А. Г. и кандидату технических наук, заведующему лабораторией технохимического контроля Всероссийского научно-исследовательского института молочной промышленности Юровой Е. А. за помощь в проведении исследований.

## 1. Introduction

Vast high-mountain territories with a complex combination of natural, climatic and feeding conditions are the favorite habitat of yaks. They are adapted to the specific conditions of the highlands, which are characterized by sharp changes in temperature and atmospheric pressure. The feeding ration is quite meager and mostly consists of low-growing vegetation 0.7 cm high. Thanks to the specific structure of the tongue and upper lip, such short grass is accessible to the yaks. Their tongue is spade-shaped, the tip is flat and thin, which gives it special mobility; the upper lip is also particularly mobile, like that of sheep [1]. The most suitable grass height for yaks is considered to be 15–18 cm. Daily feed consumption in winter is 4–6 kg, in summer – 12–15 kg.

The habitat of wild yaks currently spans to the highlands of Tibet and a small part of Nepal. Semi-wild yaks are bred in many mountainous regions of Asia: Western China, Tibet, Nepal, Bhutan, Mongolia, Altai, Tajikistan and Kyrgyzstan. They are kept only in the open air, drink running water and eat pasture. Despite their high adaptive capacity, temperature changes force yaks to change pastures depending on the season [2]. In summer, yaks try to go up higher, to where it is not so hot, but green parts of herbaceous plants have already appeared on the pastures. June and August are the best times in terms of nutritional value, phytomass and easy digestibility of herbs. The nutritional value of green food is higher due to its high carbohydrate content. At the end of summer, the grass becomes coarser and the diet is replenished with withered stems of forbs, leaves of shrubs and various high-mountain berries. With the onset of cold weather, the diet of yaks becomes more meager, which significantly affects their feeding regime, and their main food is pasture grass. A shallow layer of snow is not a hindrance for the yak; it easily breaks and digs the snow with its muzzle and extracts food from under the snow. Breeding yaks contributes to the effective use of high-mountain pastures at different times of the year, and ability of yaks to quickly gain muscle mass and accumulate fat with a meager diet indicates the high ecological plasticity of the species.

It has been established that yaks consume 49 species of forage plants, of which 16 species are cereals, 4 legumes, 6 sedges, and more than 20 species of forbs and shrubs. Their favorite delicacies are bluegrass, fescue, Koeléria, sedge, cold wormwood and Gmelin's wormwood, kochia, and teresken subshrub (*Krascheninnikovia*). There are also plants that are not eaten by them (*Gentian grandiflora*, *Desurainia filamentosa*, *Dracocephalum*, *Cinquefoil anseri*, *Quinoa spear-shaped*, *Velcro bristly*, etc.), and even poisonous for the animals: poisonous wekh, long-rooted sorrel, black cohosh, toadflax, etc. [3]. The food composition of yaks depends on their habitat, since each region has its own specific floristic set, phenology of plant vegetation, weather conditions and other meteorological factors. The growing flora of pastures has a special effect on the population and geographic feeding characteristics of these animals.

The grassland flora of different regions is influenced by several factors, including climate and topography. On the Qinghai-Tibetan Plateau (altitude is more than 3000 m above sea level), where the largest yak population lives, desert steppes predominate (precipitation is about 50 mm per year), there are less alpine steppes (about 200 mm precipitation per year), and alpine meadows are located below (up to 600 mm of precipitation per year) with a variety of vegetation: sedge, shrubs and herbs [4].

Altai alpine meadows are used as pastures mainly in the summer. The main food of Altai yaks is cereal grass (wort grass, bluegrass, Koeléria) and forbs, which are good food for accumulating the animals fat. Sparse vegetation is replaced by the fauna of shrubby tundra, the soil surface of which is often covered with mosses and bushy lichens (*cladonia* and *cetraria*), over which thickets of gray willow and round-leaved birch, only 20–40 cm high, form. *Claytonia*, fescue, and *cobresia* are occasionally found [5].

Kyrgyzstan is a mountainous country predominantly covered by vast high-mountain pastures, where grazing of the main agricultural livestock is impossible or difficult. These pastures have long been effectively used for keeping yaks, which do not require the construction of the winter stalls and the preparation of feed, since they feed only on pasture and are

not afraid of cold and icy winds. Therefore, the cost of yak production is low. In the warm season, milk is obtained from the yak cows, the composition of milk depends on various factors, including the animal's diet and the type of plant food.

The type and composition of vegetation of mountain pastures in Kyrgyzstan is also determined by the height of the mountain ranges. In the northern part, where the climate is more humid, steppes and meadows predominate; in the southern regions, deserts and semi-deserts are found more often. High-mountain meadows are characterized by low grass height, which does not exceed 25–35 cm. The most common grasses that grow are *kobrezei*, awnless brome, creeping wheatgrass, bluegrass, pinnate short-legged grass, vetch, aconite, cinquefoil, locoweeds, etc. [6]. At an altitude of more than 3000 m, the grass stand is formed from the most cold-resistant plants: *cobresia*, *ptilagrostis*, white bluegrass, fescue, reed grass, mosses and lichens. Significant areas are wastelands, which in the summer are the pastures for yaks, where they feed on high-mountain cushions of dryad flowers, *Saussurea alpine*, which begin to grow in a cushion-shaped form to preserve heat and moisture [7].

The main population of the Kyrgyz yaks lives on the pastures of the Aksai-Chatyrkul valley of the Inner Tien Shan, which is located on the border of Kyrgyzstan and the People's Republic of China. The total area of pastures is 9,250 km<sup>2</sup> at absolute altitudes of 3,100–3,600 m above sea level [8]. High-mountain pastures are used, most often, as distant lands for grazing animals.

The Aksai-Chatyrkul valley is one of the largest summer pastures of the Kyrgyz Republic. The geological structure of the valley and the surrounding ridges is quite complex. The vegetation cover is dominated by cryophyte steppes and cryophyte meadows in combination with *cobresia* (*Kobresia cappiliformis*), fescue (*Festuca kryloviana*), white grass (*Festuca olgae*), sheep (*Helictotrichon desertorum*), barley (*Hordeum turkestanicum*), fescue (*Festuca valesiaca*) and wormwood-cereals (*Stipa orientalis*, *Artemisia rhodantha*) wealds [9]. High-mountain soddy-semi-peaty and meadow-steppe alpine soils, chestnut takyr-like desert soils, and meadow-steppe carbonate subalpine soils are developed. Surface waters of the region are represented by the Western and Eastern Aksai rivers and their numerous tributaries.

It has been established [10] that depending on the altitude of the pasture, the content of vitamins and minerals in yak milk changes, the content of fat-soluble vitamins A and E increases, and, conversely, the content of vitamins B1 and B2 decreases. The content of magnesium and iron in the milk of yaks grazing on higher pastures is also higher, but the content of heavy metals is lower. Thus, the height of the pasture and, accordingly, the flora growing in the highlands play a large role in the formation of the chemical composition of yak milk.

The purpose of the work is to study the influence of the feeding ration of the Kyrgyz yak on the formation of the chemical composition of milk, to study the amino acid (AA) composition of milk proteins, and also to analyze changes in the composition of the protein fraction of milk depending on the milking season.

## 2. Materials and methods

The object of research conducted between 2019 and 2021 was yak milk obtained from the Naryn region of the Kyrgyz Republic at an altitude of 2,500–3,000 m above sea level. Naryn region is the largest region in Kyrgyzstan. More than 85% of the region's territory is occupied by the Tien Shan mountain ranges, which are covered with large tracts of natural pastures, the area of which is 2,875.5 thousand hectares.

Filtered yak milk immediately after milking was placed into special sterile milk storage bags. Milk samples were stored at minus 20 °C in a freezer until analyzed in the laboratory.

The analyzes were carried out on the basis of the Laboratory of Technochemical Control of the All-Russian Scientific Research Institute of the Dairy Industry (Moscow).

To determine the protein composition, the following analytical methods were used:

- mass fraction of protein and total nitrogen — by the Kjeldahl method according to GOST 23327–98<sup>1</sup>;
- whey protein content — according to GOST 34536–2019<sup>2</sup>;
- non-protein nitrogen content — according to GOST R55246–2012<sup>3</sup>;
- content of casein proteins — according to STB ISO 17997–1–2012<sup>4</sup>;
- lactoferrin content — according to GOST 33600–2015<sup>5</sup>;
- mass fraction of protein — according to GOST R52054–2003<sup>6</sup>;
- fat content — according to GOST 5867–90<sup>7</sup>;
- lactose content — according to GOST 34304–2017<sup>8</sup>;
- content of dry matter — according to GOST 3626–73<sup>9</sup>;
- determination of density — according to GOST 3625–84<sup>10</sup>.

The amino acid composition of milk was determined according to the method M 04–38–2009<sup>11</sup> using the capillary electrophoresis system “Kapel-205” (Lumex LLC, Russia).

The Kjeldahl method is based on the mineralization of the milk sample under the influence of sulfuric acid, potassium sulfate and copper sulfate, followed by distillation of ammonia. The resulting ammonia is titrated with sulfuric or nitric acid, and the titration results are used to calculate the content of protein and total content of nitrogen. Samples were prepared for analysis. The studied yak milk was preliminarily defatted by centrifugation at 10,000 rpm for 10 minutes. Mineralization was carried out in the presence of sulfuric acid, an oxidizing agent and a catalyst at a temperature of 420 °C in a HYP-320 digester (Hanon, China). Ammonia was distilled off after complete mineralization using an automated distiller K9840 (Hanon, China).

To study the peptide composition of milk samples, a high-performance liquid chromatography (HPLC) technique was used, which is based on the separation of protein components in the mobile phase due to differences in interactions with the sorbent. In this work, the separation was carried out using a ReproSil-Pur 300 ODS-3.5 µm 250×4.6 mm chromatographic column with a chemically grafted octadecylsilanol phase, which is capable of retaining proteins due to hydrophobic bonds, and a pore size of 300 Å, allowing the peptides to fully bind to the stationary phase. The separation was carried out using a chromatographic system from Maestro (Russia), equipped with two pumps and a dynamic mixer, which allow gradient elution of analytes in a programmable composition of the mobile phase. Double-distilled water with the addition of trifluoroacetic acid as an ion-pair reagent in an amount of 0.1% by volume and acetonitrile as an organic solvent with the addition of 0.1% trifluoroacetic acid were used as the components of the mobile phase. The samples were analyzed at room temperature with a mobile phase flow rate of 1 ml/min. The volume of the injected sample was 20 µL. The proportion of acetonitrile during the analysis was increased from 5 to 60% within 30 minutes. Detection was performed at 214 nm using a spectrophotometric detector. The measurements were made in 3 parallel versions.

The amino acid composition was determined using the capillary electrophoresis system “Kapel-205” (Lumex LLC, Russia). The measurements were carried out in 2 replicates. Methodology M 04–38–2009<sup>11</sup> was taken as a basis. When preparing samples with a view to obtaining derivatives, acid or alkaline hydrolysis was used to convert amino acids into free form.

To determine tryptophan, alkaline hydrolysis using a hot 50% barium hydroxide solution and direct determination without obtaining deriva-

tives were used. Hydrolysis was carried out while maintaining a high temperature of 110 °C for 14–16 hours. Next, the hot hydrolyzate was diluted with demineralized water, a few drops of methyl red and a solution of 2.0 mol/dm<sup>3</sup> sulfuric acid were added until neutralization (pink color). The finished solution was cooled to room temperature and brought to a volume of 50 cm<sup>3</sup> with demineralized water. 1.5 cm<sup>3</sup> of the resulting solution were taken and placed in an Eppendorf tube, which was centrifuged for 5 minutes at 5,000 rpm.

To determine the content of amino acids *Arg, Lys, Tyr, Phe, His, Leu+Ile, Met, Val, Hyp, Pro, Thr, Ser, Ala, Gly*, samples were taken and subjected to acid hydrolysis (5 cm<sup>3</sup> of concentrated hydrochloric acid and 2.5 cm<sup>3</sup> of demineralized water).

The measurement technique makes it possible to determine the total content of amino acids in the samples (total free and bound forms). Since asparagine and glutamine are quantitatively hydrolyzed to aspartic and glutamic acids respectively, during sample decomposition, data on the content of aspartic and glutamic acids represent the total content of these acids and the corresponding amides. Similarly, data for cystine content represent the total content of cystine and cysteine, after their preliminary oxidation to cysteic acid. Under measurement conditions, leucine and isoleucine are not separated, so their total determination is provided.

To determine the content of amino acids *Asp+Asn, Glu+Gln* and *Cys-Cys*, a freshly prepared mixture of hydrogen peroxide and formic acid in a ratio of 1:9 was used as an oxidizing agent. Next, the mixture was evaporated in a stream of hot air until a dry residue was obtained, which was then dissolved in 10 cm<sup>3</sup> of hydrochloric acid diluted with distilled water in a 1:1 ratio.

1.5 cm<sup>3</sup> were taken from the prepared hydrolyzed solutions, placed in an Eppendorf tube and centrifuged for 5 minutes at 5000 rpm. Detection was carried out in the UV region of the spectrum at a wavelength of 254 nm with a data acquisition rate of 2.5 Hz.

Statistical processing and generalization of experimental data were carried out using application service programs Microsoft Office Excel 2010. Tabular results are presented as the arithmetic mean ± confidence interval. The reliability of differences between data samples was determined by the method of confidence intervals. Differences between means were compared at a significance level of  $p < 0.05$ .

### 3. Results and discussion

The content of the basic nutrients in yak milk depends on the time of year, seasonal food of the animals, namely the flora of the yaks' habitat. The fat content in yak milk is higher in the cold season than in the warm season, and the total protein and lactose content is higher in the warm season. This dependence on seasonal grass vegetation and climate change was revealed by Chinese scientists Li et al. (2011) [11]. Yaks' food is plentiful in warm weather, when there is plenty of green grass, but with cold weather, short and coarse grass, as well as shrubby plants, begin to predominate in the diet. The high content of nutrients in milk, including fat, makes it possible to provide calves with everything they need to survive in the harsh conditions of the highlands. The content of main nutrients in yaks' milk depending on their habitat is given in the Table 1.

Table 1. Chemical composition of yak milk from different regions

Таблица 1. Химический состав молока яков разных регионов обитания

Biochemical composition	Yak milk, from				
	Kyrgyzstan (own data) (n=2)	Tibet [11]	Tuva [12]	Altai [13]	Mongolia [13]
Fat, %	5.40±0.22	6.12	6.96	7.7	7.29
Protein, %	5.66±0.06	4.95	4.55	5.3	5.31
Lactose, %	5.60±0.3	5.50	—	5.1	5.21
Dry matter, %	17.40±0.25	17.66	17.07	19.4	18.71

As can be seen from the Table 1, the content of nutrients in the milk of yaks from different habitat regions does not differ significantly, except for the mass fraction of fat. The milk of the animals from Altai contains the most fat. The milk of the yaks living in Kyrgyzstan is the least fatty. However, Kyrgyz yak milk contains more protein. The ratio of the mass fraction of fat and protein in milk can also be used to judge the condition of the animal and its diet [14]. The optimal ratio of these two indicators is considered to be 1:1.1–1.5. In the milk of Kyrgyz yaks, signs of acidosis are observed, because the ratio of the mass fraction of fat and protein was 1:0.96. This occurs when the animal has oxygen deficiency, a lack of fiber and an excess of easily digestible carbohydrates in the feed [15].

<sup>1</sup> GOST 23327–98. “Milk and milk products. Determination of mass part of total nitrogen by Kjeldahl method and determination of mass part of protein”. Moscow: Standartinform, 2009. — 11 p.

<sup>2</sup> GOST 34536–2019. “Milk and milk products. Determination of mass fraction of whey proteins by Kjeldahl method”. Moscow: Standartinform, 2019. — 12 p.

<sup>3</sup> GOST R55246–2012. “Milk and milk products. Determination of non-protein nitrogen content by Kjeldahl method”. Moscow: Standartinform, 2019. — 12 p.

<sup>4</sup> STB ISO 17997–1–2012. “Milk. Determination of casein-nitrogen content. Part 1. Indirect method (Reference method)”. Minsk: Gosstandart, 2012. — 11 p.

<sup>5</sup> GOST 33600–2015. “Milk and dairy products. Method for determination of the lactoferrin by high performance liquid chromatography”. Moscow: Standartinform, 2019. — 13 p.

<sup>6</sup> GOST R52054–2003. “Cow's milk raw. Specifications”. Moscow: Standartinform, 2008. — 8 p.

<sup>7</sup> GOST 5867–90. “Interstate standard. Milk and dairy products. Method of determination of fat”. Moscow: Standartinform, 2009. — 13 p.

<sup>8</sup> GOST 34304–2017. “Milk and milk products. Method for determination of lactose and galactose content”. Moscow: Standartinform, 2018. — 9 p.

<sup>9</sup> GOST 3626–73. “Milk and milk products. Methods for determination of moisture and dry substance”. Moscow: Standartinform, 2009. — 12 p.

<sup>10</sup> GOST 3625–84. “Interstate standard. Milk and milk products. Methods for determination of density. Moscow: Standartinform, 2009. — 16 p.

<sup>11</sup> M 04–38–2009 Feeds, compound feeds and raw materials for their production. Methodology for measuring the mass fraction of amino acids by capillary electrophoresis using the Kapel capillary electrophoresis system” Retrieved from [https://www.lumex.ru/metodics/22ARU03.15.01-1\\_amino\\_acids-feed.pdf](https://www.lumex.ru/metodics/22ARU03.15.01-1_amino_acids-feed.pdf) Accessed November 22, 2023.

The density of the compared types of milk is almost the same (1.033–1.034 g/cm<sup>3</sup>) with some overestimation for the milk of Altai yaks (1.038 g/cm<sup>3</sup>), associated with an increased content of dry substances.

As is known, the quality of a protein is determined by its amino acid composition. Therefore, we analyzed the amino acid profile of milk of the animals from different regions of habitat (Table 2).

Table 2. Amino acid content of yak milk (g of AA/100 g of milk)

Таблица 2. Аминокислотный профиль ячьего молока (г на 100 г молока)

Amino acid	Yak milk, Kyrgyzstan (own data) (n=2)	Yak milk, Tibet [12]	Yak milk, Tuva [13]
Threonine	0.33±19.57	0.19	0.22
Valine	0.37±22.26	0.26	0.28
Methionine	0.20±12.21	0.11	0.09
Lysine	0.59±35.59	0.38	0.35
Phenylalanine	0.35±20.93	0.22	0.21
Serine	0.36±21.65	0.23	0.23
Alanine	0.25±14.87	0.14	0.17
Proline	0.85±50.85	0.46	0.36

From the data presented (Table 2) it is clear that the milk of yak living on the pastures of Kyrgyzstan contains more amino acids, which is associated with a higher content of total protein. Amino acids such as methionine and lysine, which are especially important for the proper functioning of the human body, are higher in Kyrgyz yak milk by 2 and 1.5 times, respectively, compared to the yaks' milk from other regions (China, Russia). Lysine is useful for people suffering from cardiovascular diseases, has a positive effect on cardiac tone, and reduces cholesterol levels in the blood. Both of these amino acids are involved in calcium absorption, which is beneficial for bone formation.

The milk of yak living on the pastures of Kyrgyzstan also contains more proline (0.85 g per 100 g of milk) compared to the milk of yaks in other regions (0.46 g and 0.36 g). Proline is important in the prevention of diseases of the cardiovascular system, as it is responsible for strengthening the muscles of the heart. To improve the functioning of the human nervous system, amino acids such as alanine and phenylalanine are needed. Alanine in Kyrgyz yak milk is almost 2 times higher (0.25 g per 100 g of milk) compared to Tibetan yaks' milk (0.14 g) and Tuvan yaks' milk (0.17 g). The difference in phenylalanine content in yak milk from different regions is insignificant; however, yak milk from Kyrgyzstan contains more of this amino acid.

It is known that the macro- and micronutrient composition of milk depends on a number of factors, including the season of the year and, consequently, the feeding diet, as well as the stage of lactation. In this as-

pect, we studied changes in the protein composition of the milk of Kyrgyz yaks during different periods of lactation (spring, summer). The results obtained are shown in the Table 3.

The data from the Table 3 shows that in the spring, cow milk accumulates more proteins, including whey proteins, than in the summer, which is consistent with literature data [11]. Apparently this is due to the fact that in the pastures of the Naryn region at this time there is intensive grass growth and the yaks feed on abundant forbs, especially rich in vitamins, mineral elements, organic acids and other nutrients. For example, the content of propionic acid in herbs can affect the synthesis of lactose and protein, although the fiber content in spring is relatively low [16].

In Kyrgyzstan, the mountain steppes are used as pastures mainly in spring and autumn. The feature of the steppe grass stand is its high nutritional value throughout the growing season. The nutrient content decreases as plants progress through developmental phases, but remains high even in autumn. The protein concentration in plants decreases from 13.2 to 9.1% depending on the growth period. In years with favorable weather conditions, when precipitation falls and warm weather prevails, plants exhibit autumn tillering, which leads to a slight increase in their feed value. Due to the preservation of a high protein concentration (up to 10%), steppe grass is an excellent fattening food for the animals until late autumn. It is also known that the cinquefoil, which grows on the mountain ranges of Kyrgyzstan, is well eaten by sheep and cattle. In terms of its chemical composition, it is characterized by a high protein concentration, which decreases to 18.8% in the flowering phase and to 11.5% at the end of fruiting [17,18].

The chemical composition of the same plant may vary depending on the region of growth. Thus, the fescue plant in the phase of fruit shedding in the geological conditions of the Eastern Pamirs contains 7.2% protein, in the Alai Valley of Kyrgyzstan — 6.0%, while in the pastures of the fescue-wormwood steppe of the Kyrgyz Tien Shan range the protein concentration in the same period is already 9.5% and 11.8% in the cereal-forb meadow-steppe [17]. The high protein content in yak feed, especially in the spring before the flowering phase, accordingly affects the amount of protein in milk, which is proven by the results of our research (see Table 3).

Of all milk proteins, 20% are whey proteins, which are of particular value, close to the ideal protein and have a number of physiologically functional properties. Using capillary electrophoresis, we determined the fractional composition of whey proteins (WP) in yak milk depending on the season. The data is presented in the Table 4.

Tabular data (Table 4) indicate that there are no significant fluctuations in the quantitative content of individual fractions of whey proteins in the milk of the Kyrgyz yak in the warm (spring) and hot (July) seasons. Similar results were obtained by scientists for Chinese yak milk (Maiwa) [11,19].  $\alpha$ -LA and  $\beta$ -LG are the two major fractions of whey proteins, accounting for 20% and 50% of the total, respectively [20,21].

Table 3. Seasonal changes in the protein composition of yak milk

Таблица 3. Сезонные изменения белкового состава молока ячич, обитающих в Кыргызской Республике

Variables, %	Milk from Kyrgyz yak (own data)			Cow milk [22]
	Spring (May) (n=2)	Summer (July) (n=2)	Average value	
Protein	5.66±0.06 <sup>a</sup>	4.20±0.06 <sup>b</sup>	4.93±0.06	3.37±0.09
Whey protein	2.11±0.3 <sup>a</sup>	1.04±0.1 <sup>b</sup>	1.57±0.2	0.82±0.05
Casein protein	3.52±0.033 <sup>a</sup>	3.13±0.033 <sup>b</sup>	3.32±0.033	2.57±0.04
Total nitrogen	0.887±0.004 <sup>a</sup>	0.659±0.004 <sup>b</sup>	0.773±0.004	0.528±0.006
Non-protein nitrogen	0.0349±0.003 <sup>a</sup>	0.0348±0.003 <sup>a</sup>	0.03485±0.003	0.0320±0.0030

\* Results are presented as arithmetic mean ±SD.

both <sup>a</sup> and <sup>b</sup> occurring in the same line means that the results are significantly different (p < 0.05); n: the number of samples analyzed and computed in the statistical analysis.

Table 4. Fractional composition of whey proteins in yak milk depending on the season (mg/L of milk)

Таблица 4. Фракционный состав сывороточных белков ячьего молока в зависимости от сезона года (мг/л молока)

Whey proteins factions	Milk from Kyrgyz yak (own data)			Yak milk [19]	Cow milk [19]
	Spring (May) (n=2)	Summer (July) (n=2)	Average value		
Serum albumin (BSA)	1.27±0.06 <sup>a</sup>	1.06±0.005 <sup>b</sup>	1.165±0.005	1.49	0.41
$\alpha$ -Lactalbumin ( $\alpha$ -LA)	1.65±0.008 <sup>a</sup>	1.51±0.007 <sup>b</sup>	1.58±0.007	0.72	1.24
$\beta$ -Lactoglobulin A ( $\beta$ -LG A)	0.747±0.003 <sup>a</sup>	0.576±0.002 <sup>b</sup>	0.661±0.002	0.74	3.30
$\beta$ -Lactoglobulin B ( $\beta$ -LG B)	1.36±0.006 <sup>a</sup>	1.28±0.006 <sup>a</sup>	1.32±0.006	5.49	—
Lactoferrin	0.09±0.0004 <sup>a</sup>	0.07±0.0003 <sup>a</sup>	0.08±0.0004	—	—

\* The results are presented as the arithmetic mean ±SD.

both <sup>a</sup> and <sup>b</sup> occurring in the same line means that the results are significantly different (p < 0.05); n: the number of samples analyzed and computed in the statistical analysis.



$\beta$ -Lactoglobulin is the main whey protein in the milk of ruminant animals such as cow and goat [23].  $\beta$ -Lactoglobulin also dominates in the overall aggregation and gelation of whey proteins (WP) [24].

It is also known that at different periods of the year the proportion of  $\beta$ -lactoglobulin in the composition of WP may fluctuate. Thus, in the work of Ostroumov [25] showed that the maximum amount of  $\beta$ -lactoglobulin is observed in milk of the winter period: January – 61.9%, December – 61.0%. In the summer months (June, July) this fraction was 57.5–57.8%. A slight decrease in the proportion of the  $\beta$ -lactoglobulin fraction is noted in the WP of spring milk (March – 50.1%, April – 41.4%, May – 47.7%).

In the milk of Kyrgyz yaks, the average total content of two genetic variants of  $\beta$ -lactoglobulin ( $\beta$ -LG A and  $\beta$ -LG B) is 1.98 mg/cm<sup>3</sup> or 41.25% of all WP (Table 4). In spring these values reach 2.1 mg/cm<sup>3</sup> or 41.02%, and in summer – 1.86 mg/cm<sup>3</sup> or 41.4%. That is, in contrast to cow's milk, in Kyrgyz yak milk there are no noticeable fluctuations in the content of  $\beta$ -lactoglobulin according to the seasons of the year.

At the same time, a significant difference was found between the content of  $\beta$ -LG B in the WP of Kyrgyz and Chinese yak milk (Table 4). The milk under study contains approximately 3.15 times less of this fraction than Chinese yak milk. Further research is needed to explain this phenomenon.

In the milk we studied, the ratio of the amounts of  $\beta$ -LG A and  $\beta$ -LG B in spring and summer was 1:1.8 and 1:2.2, respectively. The ratio of the amount of  $\beta$ -lactoglobulin and  $\alpha$ -lactalbumin was on average 1:1.25. The work [26] presents the results of a study of seasonal fluctuations in the amount of  $\beta$ -lactoglobulin in milk of khainak (hybrid of yak and cattle). It has been established that the ratio  $\beta$ -LG A/ $\beta$ -LG B in spring, summer and autumn is 1:2.5, 1:1.9 and 1:1.5, respectively, which indicates the dependence of the content of these fractions in milk on the season. Similar changes also occur in cow milk depending on the milk protein genotype, stage of lactation, feeding, etc. [24,26–29].

Lactoferrin is a minor protein and it has bactericidal properties against *E. coli*. In the milk studied, its content averages 0.08 mg/cm<sup>3</sup> (Table 4), which is comparable to cow milk [25]. In the milk of the Chinese yak Mai-wa, the content of lactoferrin ranges from 0.144 to 0.180 mg/cm<sup>3</sup> [30], which is 1.8–2.3 times higher than in the milk of the Kyrgyz yak, which is most likely due to differences in the feeding diet of the animals.

The identified seasonal fluctuations in protein content in Kyrgyz yak milk may also affect its biological value, which is determined by the amino acid profile. In this regard, we studied seasonal changes (qualitative and quantitative) in the amino acid composition of milk proteins of yak animals living in the mountainous regions of Kyrgyzstan. The obtained data (in comparison with known ones) are given in the Table 5 and in Figure 1.

The results showed (Table 5) that the total content of amino acids (essential and non-essential) in the spring is slightly higher ( $p < 0.05$ ) than in the summer, which is consistent with the protein content in the studied time periods. Moreover, among the essential amino acids, the sum of

leucine-isoleucine has the highest content, the average value of which was 927.45 mg/100 g of milk, which is 1.4 times more than in Chinese yak milk, and 2.15 times higher than in cow milk. Among the non-essential amino acids, we can highlight proline and glutamic acid, the content of which is also quite high in the spring and summer. Moreover, in spring there is almost 2 times more glutamic acid than in summer. The increased content in spring milk compared to the summer period is also typical for other amino acids (Table 5). Thus, the average content of amino acids in the milk of yak from Kyrgyzstan (our own research) is 5850.81 mg/100 g of milk, while the milk of yak grazing on the highland pastures of China contains 4700 mg of amino acids per 100 g of milk [11], and in cow milk –

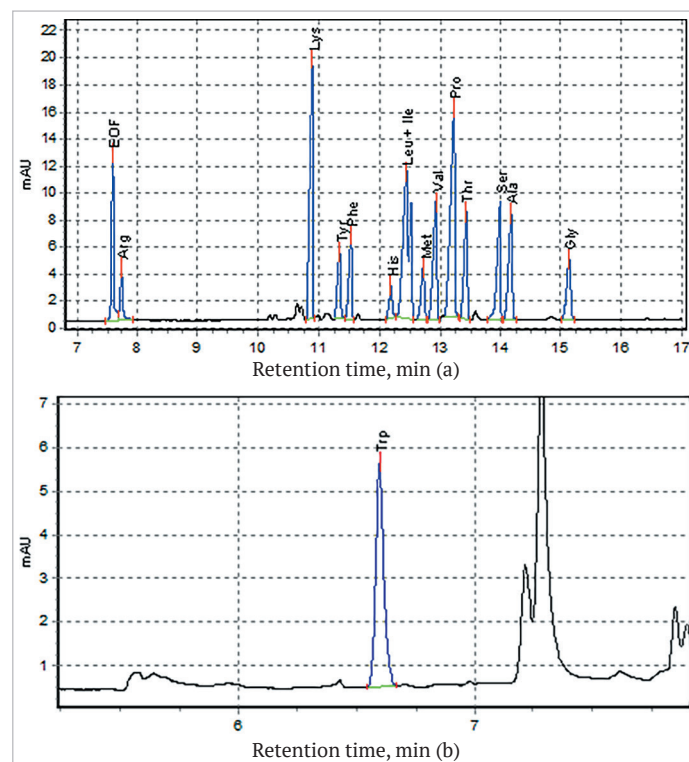


Figure 1. Electropherograms of amino acid analysis of yak milk proteins in Spring: a – Arg, Lys, Tyr, Phe, His, Leu+Ile, Met, Val, Pro, Thr, Ser, Ala, Gly; b – Trp

Рисунок 1. Электрофорезграммы аминокислотного анализа белков ячьего молока в весенний период (а – Arg, Lys, Tyr, Phe, His, Leu+Ile, Met, Val, Pro, Thr, Ser, Ala, Gly; б – Trp)

Table 5. Seasonal changes in the content of amino acids in the Kyrgyz yak milk (mg of AA/ 100 g of milk)

Таблица 5. Сезонные изменения содержания аминокислот в молоке ячих кыргызской популяции (мг на 100 г молока)

Variables	Milk from Kyrgyz yak (own data)			Yak milk [6]	Cow milk [6]
	Spring (May) (n=2)	Summer (July) (n=2)	Average value		
Total essential AA	3095.46	2475	2785.23	1950	1380
Threonine	326.1 ± 19.57 <sup>a</sup>	255.2 ± 15.31 <sup>b</sup>	290.65	190	150
Valine	371.0 ± 22.26 <sup>a</sup>	252.4 ± 15.14 <sup>b</sup>	311.7	260	160
Methionine	203.5 ± 12.21 <sup>a</sup>	172.7 ± 10.36 <sup>b</sup>	188.1	110	60
Lysine	593.7 ± 35.59 <sup>a</sup>	465.7 ± 27.94 <sup>b</sup>	529.7	380	270
Phenylalanine	348.9 ± 20.93 <sup>a</sup>	298.7 ± 17.92 <sup>b</sup>	323.8	220	160
Histidine	195.1 ± 11.71 <sup>a</sup>	161.2 ± 9.67 <sup>b</sup>	178.15	120	100
Leucine-Isoleucine	1010.0 ± 60.6 <sup>a</sup>	844.9 ± 50.69 <sup>b</sup>	927.45	670	430
Tryptophan	47.16 ± 2.83 <sup>a</sup>	24.2 ± 1.45 <sup>b</sup>	35.68	–	50
Total nonessential AA	<b>3094.5</b>	<b>2626.47</b>	<b>3065.58</b>	<b>2750</b>	<b>1950</b>
Arginine	265.1 ± 15.91 <sup>a</sup>	208.8 ± 12.53 <sup>b</sup>	236.95	160	110
Serine	360.8 ± 21.65 <sup>a</sup>	291.5 ± 17.49 <sup>b</sup>	326.15	230	160
Alanine	247.9 ± 14.87 <sup>a</sup>	291.5 ± 17.49 <sup>b</sup>	269.7	140	100
Proline	847.5 ± 50.85 <sup>a</sup>	745.5 ± 44.73 <sup>b</sup>	796.5	460	320
Glycine	121.2 ± 7.27 <sup>a</sup>	112.8 ± 6.77 <sup>b</sup>	117.0	120	60
Tyrosine	349.3 ± 20.96 <sup>a</sup>	293.4 ± 17.60 <sup>b</sup>	320.85	220	150
Aspartic acid	411.2 ± 24.67 <sup>a</sup>	214.8 ± 12.89 <sup>b</sup>	313.0	330	260
Cysteine	38.80 ± 2.33 <sup>a</sup>	27.97 ± 1.68 <sup>b</sup>	33.38	40	20
Glutamic acid	863.9 ± 51.83 <sup>a</sup>	440.2 ± 26.41 <sup>b</sup>	652.05	1050	770
Total AA	<b>6189.96</b>	<b>5101.47</b>	<b>5850.81</b>	<b>4700</b>	<b>3330</b>

both <sup>a</sup> and <sup>b</sup> occurring in the same line means that the results are significantly different ( $p < 0.05$ ); n: the number of samples analyzed and computed in the statistical analysis.

3330 mg/100 g. Similar studies of khainak milk, a hybrid of yak and cattle, were carried out by Elemanova [26]. The results of the analysis of the amino acid composition of milk depending on the season of the year showed that the amount of some amino acids does not depend on the season, however, in the warm season the content of most essential amino acids was higher than in the cold season.

According to FAO/WHO recommendations, the biological value of proteins is determined by the balance of each essential amino acid in relation to their content in an ideal protein [31]. Deficiency of any amino acid in the body limits the use of all other amino acids in the process of protein biosynthesis. To determine the biological value of yak milk proteins, their amino acid composition was assessed in relation to the "ideal" protein (Table 6).

Table 6. Assessment of the amino acid composition of Kyrgyz yak milk proteins in relation to the "Ideal" protein

Таблица 6. Оценка аминокислотного состава белков молока ячички кыргызской популяции по отношению к «идеальному» белку

Variables	Essential amino acids, g/100 g of protein							
	Threonine	Valine	Methionine	Lysine	Phenylalanine+ Tyrosine	Histidine	Leucine+ Isoleucine	Tryptophan
Ideal protein, g/100 g of protein	3.1	4.3	2.7	5.7	5.2	2.0	9.8	0.85
Average amino acid content, g/100 g of protein, (own data)	5.9	6.3	3.8	10.7	13.08	3.6	18.8	0.7
Amino acid score, %	190	146	141	188	252	180	192	82

Among the essential amino acids, phenylalanine+tyrosine and leucine+isoleucine have the highest amino acid scores — 252% and 192%, respectively. The limiting amino acid is tryptophan with a rate of 82%. The content of other essential amino acids in yak milk proteins exceeds 100% (141–190%).

Essential amino acids do not only act as building blocks for tissue protein, but are also precursors to glucose, participate in urea synthesis and other metabolic processes. New physiological functions of branched chain amino acids have been discovered [32]. They are involved in the synthesis of nitrogenous compounds that regulate glucose metabolism, the synthesis of lipids and proteins. Many amino acids are the essential ingredients in the synthesis of compounds, being suppliers of nitrogen and carbon [33]. Phenylalanine is necessary for the normal functioning of the central nervous system and is involved in the formation of neurotransmitters such as norepinephrine, adrenaline and dopamine [34]. It is also necessary for the synthesis of tyrosine. And with a deficiency of the precursor substance, a corresponding deficiency of tyrosine occurs. In turn, tyrosine is a precursor of catecholamines, converted into dopamine by L-Dopa (a direct precursor of dopamine) and the enzymes tyrosine hydroxylase (TH) and aromatic L-amino acid decarboxylase, and into norepinephrine by dopamine  $\beta$ -hydroxylase. Insufficient intake of

phenylalanine and tyrosine from protein foods subsequently leads to neurocognitive disorders of the human nervous system [35]. Leucine enhances protein synthesis, so consumption of this amino acid is often recommended for people with protein deficiency. Studies have shown that supplemental leucine improves protein balance during fasting, and consumption in the fasted state improves nitrogen balance [36]. Isoleucine, like leucine, is not only a structural unit of tissue protein (which accounts for 35% of essential amino acids in muscles), but also performs other metabolic functions, in particular it is a building material for ketone bodies and glucose. Thus, this amino acid regulates blood sugar levels. Isoleucine is involved in the process of hemoglobin synthesis [37]. Together, these two amino acids (leucine and isoleucine) regulate basic metabolic processes, which is especially important in diseases such as diabetes, heart failure and cancer [38].

Thus, the nutrient composition of grasses growing in different mountain regions significantly influences the amino acid profile of yak milk. The results of the analysis of the amino acid composition of milk depending on the season of the year showed that the content of amino acids depends on the time of year, and their content is higher in spring than in summer.

#### 4. Conclusions

It has been established that the composition of milk from yaks living in different regions of the world varies slightly. Meanwhile, the milk of Kyrgyz yak contains more protein (5.66%) compared to the milk of the yak of Tibet, Tuva, Altai and Mongolia (4.95; 4.55; 5.3 and 5.31%, respectively) with a corresponding increase in the content of all studied amino acids, which is associated with the composition of feed, with the set of flora corresponding to each region, and the phenology of a plant vegetation.

However, the mass fraction of fat in the studied milk is noticeably lower (5.4%) than in the milk of animals living in a number of other regions of the world.

The mass fraction of lactose and dry substances in the comparison objects and in the milk of Kyrgyz yaks does not differ significantly.

Research has shown that yak milk in the spring contains more proteins, including whey proteins (5.66±0.06% and 2.11±0.3%, respectively) than summer milk (4.2±0.06% and 1.04±0.1%), which is apparently due to seasonal changes in the nutrient composition of grasses.

There were no significant deviations in the fractional composition of whey proteins in yak milk obtained at different times of the year. The ratio of the amount of  $\beta$ -LG A and  $\beta$ -LG B in spring and summer was 1:1.8 and 1:2.2, respectively. The ratio of  $\beta$ -lactoglobulin and  $\alpha$ -lactalbumin is 1:1.25 on average.

The total content of amino acids in the Kyrgyz yak milk is noticeably higher in a spring (6189.96 mg/100g) than in a summer (5101.47 mg/100g). The results of determining the health benefits of yak milk protein showed that the limiting amino acid is tryptophan (score 82%), the remaining essential amino acids had a score above 100% (141–190%).

One of the most important factors influencing seasonal changes in the amino acid profile of Kyrgyz yak milk is, most likely, the qualitative and quantitative content of nutrients in the feeding ration of these animals.

The results of our research serve as further evidence of the high nutritional and biological value of milk obtained from the yaks of mountainous regions of the Kyrgyz Republic, which makes it possible to produce multifunctional dairy products from such raw materials.

#### REFERENCES

- Chysyma, R.B., Kuzmina, E.E. (2017). Yak breeding of the Republic Tuva: A condition and prospects of innovational development. *Journal of Dairy and Beef Cattle Breeding*, 6, 15–17. (In Russian)
- Wiener, G. (2005). The yak. Bangkok, Thailand: RAP Publication, 2003.
- Irgit, R.S., Lushchenko, A.E. (2021). Workshop on yaks breeding. Kyzyl: Publishing house of Tuva State University, 2021. (In Russian)
- Luming, D., Ruijun, L., Zhanhuan, S., Changting, W., Yuhai, Y., Songhe, X. (2008). Feeding behaviour of yaks on spring, transitional, summer and winter pasture in the alpine region of the Qinghai-Tibetan plateau. *Applied Animal Behaviour Science*, 111(3–4), 373–390. <http://doi.org/10.1016/j.applanim.2007.06.008>
- Arutyunyan, A.A., Raspopina, L.G. (2019). The features of the high-mountain animal — the yak. *Young Scientist*, 5(25), 31–34. (In Russian)
- Ionov, R. N., Lebedeva, L. P. (2019). Flora of Kyrgyzstan. *Kyrgyzstan Live Nature Research*, 1–2, 24–34. <http://doi.org/10.5281/ZENODO.4286250> (In Russian)
- Imanberdieva, N.A., Lebedeva, L.P. (2016). Medicinal plants of At-Bashy valley in the inner Tien-Shan of Kyrgyzstan. The problems of preservation of natural resources. *Scientific Result. Medicine and Pharmacy Series*, 2(2), 37–43. <https://doi.org/10.18413/2313-8955-2016-2-2-37-43> (In Russian)
- Kadyrkulov, M.K. (2012). Physical geography of Kyrgyzstan. Bishkek: Innat, 2012. (In Kyrgyz)
- Zhumaliev, A.S., Kurochkin, Yu.N., Syromyatina, M.V., Chistyakov, K.V. (2017). Dynamics of land use of the high-altitude Aksai-Chatyrkul depression of the Inner Tien-Shan (1980–2010). *Geography and Natural Resources*, 1, 179–187. (In Russian)
- Lin, Y.A., Yang, Ch., Chi, F., Gu, X., Zhu, Y. (2021). Survey of the vitamin and mineral content in milk from yaks raised at different altitudes. *International Journal of Food Science*, 2021, Article 1855149. <https://doi.org/10.1155/2021/1855149>
- Li, H., Ma, Y., Li, Q., Wang, J., Cheng, J., Xue, J. et al. (2011). The chemical composition and nitrogen distribution of Chinese yak (Maiwa) milk. *International Journal of Molecular Sciences*, 12(8), 4885–4895. <https://doi.org/10.3390/ijms12084885>
- Kan-Ool, B.K., Ludu, B.M. (2016). Biochemical composition of milk of Tuvinian grunting cows. *Siberian Herald of Agricultural Science*, 4, 58–63. (In Russian)
- Bakhtushkina, A.I., Koval, A.D. (2020). Milk production and milk chemical composition of yak females of the Altai population. *Bulletin of Altai State Agricultural University*, 8(190), 81–86. (In Russian)
- Tikhomirov, I.A. (2018). Modern methods of high quality milk production technological processes control and management. *Machinery and Technologies in Livestock*, 3(31), 163–168. (In Russian)
- Chasovshchikova, M.A., Gubanov, M.V. (2022). The ratio between dairy fat and milk protein in cows as an indicator of herd health. *Bulletin of KSAU*, 9(186), 104–110. <http://doi.org/10.36718/1819-4036-2022-9-104-110> (In Russian)
- So, S., Wanapat, M., Cherdthong, A. (2021). Effect of sugarcane bagasse as industrial by-products treated with *Lactobacillus casei* TH14, cellulase and molasses on feed utilization, ruminal ecology and milk production of mid-lactating

- Holstein Friesian cows. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 101(11), 4481–4489. <https://doi.org/10.1002/jsfa.11087>
17. Imanberdieva, N.A., Temirbaeva, A. (2012). Forage plants pastures of Kyrgyzstan and their chemical composition. *Izvestiya Vysshih Uchebnyh Zavedeniy Kyrgyzstana*, 6, 121–122. (In Russian)
  18. Shukurov, E.J., Ionov, R.N., Lebedeva, L.P., Shukurov, E.E., Ionova, T.R., Zhusupbaeva, A.A. (2017). Herbaceous and animals communities of Kyrgyzstan. Bishkek: EDC "Alaine", ED "BIOM". (In Russian)
  19. Li, H., Ma, Y., Dong, A., Wang, J., Li, Q., He, S. et al. (2010). Protein composition of yak milk. *Dairy Science and Technology*, 90(1), 111–117. <https://doi.org/10.1051/dst/2009048>
  20. Permyakov, E.A., Berliner, L.J. (2000).  $\alpha$ -Lactalbumin: Structure and function. *FEBS Letters*, 473(3), 269–274. [https://doi.org/10.1016/S0014-5793\(00\)01546-5](https://doi.org/10.1016/S0014-5793(00)01546-5)
  21. Croguennec, T., O'Kennedy, B.T., Mehra, R. (2004). Heat-induced denaturation/aggregation of  $\beta$ -lactoglobulin A and B: Kinetics of the first intermediates formed. *International Dairy Journal*, 14(5), 399–409. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2003.09.005>
  22. Meldenberg, D.N., Polyakova, O.S., Semenova, E.S., Yurova, E.A. (2020). Development of a comprehensive milk protein composition assessment from raw materials of various farm animals for the functional products production. *Storage and Processing of Farm Products*, 3, 118–133. <https://doi.org/10.36107/spfp.2020.352> (In Russian)
  23. Pesic, M.B., Barac, M.B., Stanojevic, S.P., Vrvic, M.M. (2014). Effect of pH on heat-induced casein-whey protein interactions: A comparison between caprine milk and bovine milk. *International Dairy Journal*, 39(1), 178–183. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2014.06.006>
  24. Surroca, Y., Haverkamp, J., Heck, A.J.R. (2002). Towards the understanding of molecular mechanisms in the early stages of heat induced aggregation of beta-lactoglobulin AB. *Journal of Chromatography A*, 970(1–2), 275–285. [https://doi.org/10.1016/S0021-9673\(02\)00884-1](https://doi.org/10.1016/S0021-9673(02)00884-1)
  25. Ostroumov, L.A., Shakhmatov, R.A., Kurbanova, M.G. (2011). Investigation of seasonal changes in fractional composition of milk proteins. *Food Processing: Techniques and Technology*, 1(20), 36a–41. (In Russian)
  26. Elamanova, R. Sh. (2022). Seasonal changes in the protein composition of khainak milk. *Food Processing: Techniques and Technology*, 52(3), 555–569. (In Russian). <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2022-3-2381>
  27. Roin, N.R., Larsen, L.B., Comi, I., Devold, T.G., Eliassen, T.I., Inglingstad, R.A. et al. (2022). Identification of rare genetic variants of the  $\alpha$ -caseins in milk from native Norwegian dairy breeds and comparison of protein composition with milk from highyielding Norwegian Red cows. *Journal of Dairy Science*, 105(2), 1014–1027. <https://doi.org/10.3168/jds.2021-20455>
  28. Bär, C., Sutter, M., Kopp, C., Neuhaus, P., Portmann, R., Egger, L. et al. (2020). Impact of herbage proportion, animal breed, lactation stage and season on the fatty acid and protein composition of milk. *International Dairy Journal*, 109, Article 104785. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2020.104785>
  29. Li, S., Ye, A., Singh, H. (2019). Seasonal variations in composition, properties, and heat-induced changes in bovine milk in a seasonal calving system. *Journal of Dairy Science*, 102(9), 7747–7759. <https://doi.org/10.3168/jds.2019-16685>
  30. Chen, Y., Qu, S., Huang, Z., Ren, Y., Wang, L., Rankin, S.A. (2021). Analysis and comparison of key proteins in Maiwa yak and bovine milk using high-performance liquid chromatography mass spectrometry. *Journal of Dairy Science*, 104(8), 8661–8672. <https://doi.org/10.3168/jds.2021-20269>
  31. Khromova, L.G., Baylova, N.V., Sychev, A.I. (2021). Biological value of proteins of milk of Simmental cows produced under conditions of intensive technology. *Scientific Notes Kazan Bauman State Academy of Veterinary Medicine*, 247(3), 288–295. <http://doi.org/10.31588/2413-4201-1883-247-3-288-292> (In Russian)
  32. Shimomura, Y., Kitaura, Y., Kadota, Y., Ishikawa, T., Kondo, Y., Xu, M. et al. (2015). Novel physiological functions of branched-chain amino acids. *Journal of Nutritional Science and Vitaminology*, 61(Sup), S112–S114. <https://doi.org/10.3177/jnsv.61.S112>
  33. Nie, C., He, T., Zhang, W., Zhang, G., Ma, X. (2018). Branched chain amino acids: Beyond nutrition metabolism. *International Journal of Molecular Sciences*, 19(4), Article 954. <https://doi.org/10.3390/ijms19040954>
  34. Akram, M., Daniyal, M., Ali, A., Zainab, R., Muhammad Ali Shah, S., Munir, N. et al. (2020). Role of phenylalanine and its metabolites in health and neurological disorders. Chapter in a book: Synucleins – biochemistry and role in diseases. IntechOpen, 2020. <http://doi.org/10.5772/intechopen.83648>
  35. McGinnity, C.J., Riaño Barros, D.A., Guedj, E., Girard, N., Symeon, C., Walker, H. et al. (2021). Retrospective case series analysis of the relationship between phenylalanine: Tyrosine ratio and cerebral glucose metabolism in classical phenylketonuria and hyperphenylalaninemia. *Frontiers in Neuroscience*, 15, Article 664525. <https://doi.org/10.3389/fnins.2021.664525>
  36. Holeček, M. (2018). Branched-chain amino acids in health and disease: Metabolism, alterations in blood plasma, and as supplements. *Nutrition and Metabolism*, 15(1), Article 33. <https://doi.org/10.1186/s12986-018-0271-1>
  37. Zhang, S., Zeng, X., Ren, M., Mao, X., Qiao, S. (2017). Novel metabolic and physiological functions of branched chain amino acids: A review. *Journal of Animal Science and Biotechnology*, 8, Article 10. <http://doi.org/10.1186/s40104-016-0139-z>
  38. Dimou, A., Tsimihodimos, V., Bairaktari, E. (2022). The critical role of the branched chain amino acids (BCAAs) catabolism-regulating enzymes, branched-chain aminotransferase (BCAT) and branched-chain  $\alpha$ -keto acid dehydrogenase (BCKD), in human pathophysiology. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(7), Article 4022. <https://doi.org/10.3390/ijms23074022>

## БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Чысыма, Р.Б., Кузьмина, Е.Е. (2017). Яководство республики Тыва: состояние и перспективы инновационного развития. *Молочное и мясное скотоводство*, 6, 15–17.
2. Wiener, G. (2003). The yak. Bangkok, Thailand: RAP Publication, 2003.
3. Иргит, Р.Ш., Лущенко, А.Е. (2021). Практикум по яководству: учебное пособие. Кызыл: Изд-во ТувГУ, 2021.
4. Luming, D., Ruijun, L., Zhanhuan, S., Changting, W., Yuhai, Y., Songhe, X. (2008). Feeding behaviour of yaks on spring, transitional, summer and winter pasture in the alpine region of the Qinghai-Tibetan plateau. *Applied Animal Behaviour Science*, 111(3–4), 373–390. <https://doi.org/10.1016/j.applanim.2007.06.008>
5. Арутюнян, А.А., Распопина, Л.Г. (2019). Особенности высокогорного животного — яка. *Юный ученый*, 5(25), 31–34.
6. Ионов, Р.Н., Лебедева, Л.П. (2019). Растительный мир Кыргызстана. *Исследование живой природы Кыргызстана*, 1–2, 24–34. <http://doi.org/10.5281/ZENODO.4286230>
7. Иманбердиева, Н.А., Лебедева, Л.П. (2016). Лекарственные растения Ат-башинской долины внутреннего Тянь-Шаня Кыргызстана и проблемы сохранения природных ресурсов. *Научный результат. Серия Медицина и фармация*, 2(2), 37–43. <https://doi.org/10.18413/2313-8955-2016-2-2-37-43>
8. Кадыркулов М. К. (2012). Физическая география Кыргызстана. Бишкек: Инсанат, 2012. (На киргизском языке)
9. Жумалиева, А. С., Курочкин, Ю. Н., Сиромятин, М. В., Чистяков, К. В. (2017). Динамика использования земель высокогорной Аксай-Чатыркульской впадины Внутреннего Тянь-Шаня (1980–2010 гг.). *География и природные ресурсы*, 1, 179–187.
10. Lin, Y.A., Yang, Ch., Chi, F., Gu, X., Zhu, Y. (2021). Survey of the vitamin and mineral content in milk from yaks raised at different altitudes. *International Journal of Food Science*, 2021, Article 1855149. <https://doi.org/10.1155/2021/1855149>
11. Li, H., Ma, Y., Li, Q., Wang, J., Cheng, J., Xue, J. et al. (2011). The chemical composition and nitrogen distribution of Chinese yak (Maiwa) milk. *International Journal of Molecular Sciences*, 12(8), 4885–4895. <https://doi.org/10.3390/ijms12084885>
12. Кан-Оол, Б.К., Луду, Б.М. (2016). Биохимический состав молока тувинских якаток. *Сибирский вестник сельскохозяйственной науки*, 4, 58–63.
13. Бахтускина, А.И., Коваль, А.Д. (2020). Молочность и химический состав молока ячих алтайской популяции. *Вестник Алтайского государственного аграрного университета*, 8(190), 81–86.
14. Тихомиров, И.А. (2018). Современные методы контроля и управления технологическими процессами производства высококачественного молока. *Техника и технологии в животноводстве*, 3(31), 163–168.
15. Часовщикова, М.А., Губанов, М.В. (2022). Соотношение между массовой долей жира и белка в молоке коров как показатель здоровья стада. *Вестник КрасГАУ*, 9(186), 104–110. <http://doi.org/10.36718/1819-4036-2022-9-104-110>
16. So, S., Wanapat, M., Cherdthong, A. (2021). Effect of sugarcane bagasse as industrial by-products treated with *Lactobacillus casei* TH14, cellulase and molasses on feed utilization, ruminal ecology and milk production of mid-lactating Holstein Friesian cows. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 101(11), 4481–4489. <https://doi.org/10.1002/jsfa.11087>
17. Иманбердиева, Н.А., Темирбаева, А. (2012). Кормовые растения пастбищ Кыргызстана и их химический состав. *Известия ВУЗов Кыргызстана*, 6, 121–122.
18. Шукуров, Э. Дж., Ионов, Р.Н., Лебедева, Л.П., Шукуров, Э.Э., Ионова, Т.Р., Жусупбаева, А.А. (2017). Растительные и животные сообщества Кыргызстана. ЭДК «Алейне», ЭД «БИОМ», Бишкек, 2017.
19. Li, H., Ma, Y., Dong, A., Wang, J., Li, Q., He, S. et al. (2010). Protein composition of yak milk. *Dairy Science and Technology*, 90(1), 111–117. <https://doi.org/10.1051/dst/2009048>
20. Permyakov, E.A., Berliner, L.J. (2000).  $\alpha$ -Lactalbumin: Structure and function. *FEBS Letters*, 473(3), 269–274. [https://doi.org/10.1016/S0014-5793\(00\)01546-5](https://doi.org/10.1016/S0014-5793(00)01546-5)
21. Croguennec, T., O'Kennedy, B.T., Mehra, R. (2004). Heat-induced denaturation/aggregation of  $\beta$ -lactoglobulin A and B: Kinetics of the first intermediates formed. *International Dairy Journal*, 14(5), 399–409. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2003.09.005>
22. Мельденберг, Д.Н., Полякова, О.С., Семёнова, Е.С., Юрова, Е.А. (2020). Разработка комплексной оценки белкового состава молока сырья различных сельскохозяйственных животных для выработки продуктов функционального назначения. *Хранение и переработка сельхозсырья*, 3, 118–133. <https://doi.org/10.36107/spfp.2020.352>
23. Pesic, M.B., Barac, M.B., Stanojevic, S.P., Vrvic, M.M. (2014). Effect of pH on heat-induced casein-whey protein interactions: A comparison between caprine milk and bovine milk. *International Dairy Journal*, 39(1), 178–183. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2014.06.006>
24. Surroca, Y., Haverkamp, J., Heck, A.J.R. (2002). Towards the understanding of molecular mechanisms in the early stages of heat induced aggregation of beta-lactoglobulin AB. *Journal of Chromatography A*, 970(1–2), 275–285. [https://doi.org/10.1016/S0021-9673\(02\)00884-1](https://doi.org/10.1016/S0021-9673(02)00884-1)
25. Остроумов, Л.А., Шахматов, Р.А., Курбанова, М.Г. (2011). Исследование сезонных изменений фракционного состава белков молока. *Техника и технологии пищевых производств*, 1(20), 36a–41.
26. Элеманова, Р. Ш. (2022). Характеристика сезонных изменений белкового состава молока хайнака. *Техника и технология пищевых производств*, 52(3), 555–569. <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2022-3-2381>
27. Roin, N.R., Larsen, L.B., Comi, I., Devold, T.G., Eliassen, T.I., Inglingstad, R.A. et al. (2022). Identification of rare genetic variants of the  $\alpha$ -caseins in milk from native Norwegian dairy breeds and comparison of protein composition with milk from highyielding Norwegian Red cows. *Journal of Dairy Science*, 105(2), 1014–1027. <https://doi.org/10.3168/jds.2021-20455>
28. Bär, C., Sutter, M., Kopp, C., Neuhaus, P., Portmann, R., Egger, L. et al. (2020). Impact of herbage proportion, animal breed, lactation stage and season on the fatty acid and protein composition of milk. *International Dairy Journal*, 109, Article 104785. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2020.104785>
29. Li, S., Ye, A., Singh, H. (2019). Seasonal variations in composition, properties, and heat-induced changes in bovine milk in a seasonal calving system. *Journal of Dairy Science*, 102(9), 7747–7759. <https://doi.org/10.3168/jds.2019-16685>
30. Chen, Y., Qu, S., Huang, Z., Ren, Y., Wang, L., Rankin, S.A. (2021). Analysis and comparison of key proteins in Maiwa yak and bovine milk using high-perfor-

- mance liquid chromatography mass spectrometry. *Journal of Dairy Science*, 104(8), 8661–8672. <https://doi.org/10.3168/jds.2021-20269>
31. Хромова, Л.Г., Байлова, Н.В., Сычев, А.И. (2021). Биологическая ценность белков молока коров симментальской породы, производимого в условиях интенсивной технологии. *Ученые записки Казанской государственной академии ветеринарной медицины им. Н.Э. Баумана*, 247(3), 288–293. <http://doi.org/10.31588/2413-4201-1883-247-3-288-292>
32. Shimomura, Y., Kitaura, Y., Kadota, Y., Ishikawa, T., Kondo, Y., Xu, M. et al. (2015). Novel physiological functions of branched-chain amino acids. *Journal of Nutritional Science and Vitaminology*, 61(Sup), S112–S114. <https://doi.org/10.3177/jnsv.61.S112>
33. Nie, C., He, T., Zhang, W., Zhang, G., Ma, X. (2018). Branched chain amino acids: Beyond nutrition metabolism. *International Journal of Molecular Sciences*, 19(4), Article 954. <https://doi.org/10.3390/ijms19040954>
34. Akram, M., Daniyal, M., Ali, A., Zainab, R., Muhammad Ali Shah, S., Munir, N. et al. (2020). Role of phenylalanine and its metabolites in health and neurological disorders. Chapter in a book: Synucleins — biochemistry and role in diseases. IntechOpen, 2020. <http://doi.org/10.5772/intechopen.83648>
35. McGinnity, C.J., Riaño Barros, D.A., Guedj, E., Girard, N., Symeon, C., Walker, H. et al. (2021). Retrospective case series analysis of the relationship between phenylalanine: Tyrosine ratio and cerebral glucose metabolism in classical phenylketonuria and hyperphenylalaninemia. *Frontiers in Neuroscience*, 15, Article 664525. <https://doi.org/10.3389/fnins.2021.664525>
36. Holeček, M. (2018). Branched-chain amino acids in health and disease: Metabolism, alterations in blood plasma, and as supplements. *Nutrition and Metabolism*, 15(1), Article 33. <https://doi.org/10.1186/s12986-018-0271-1>
37. Zhang, S., Zeng, X., Ren, M., Mao, X., Qiao, S. (2017). Novel metabolic and physiological functions of branched chain amino acids: A review. *Journal of Animal Science and Biotechnology*, 8, Article 10. <http://doi.org/10.1186/s40104-016-0139-z>
38. Dimou, A., Tsimihodimos, V., Bairaktari, E. (2022). The critical role of the branched chain amino acids (BCAAs) catabolism-regulating enzymes, branched-chain aminotransferase (BCAT) and branched-chain  $\alpha$ -keto acid dehydrogenase (BCKD), in human pathophysiology. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(7), Article 4022. <https://doi.org/10.3390/ijms23074022>

AUTHOR INFORMATION	СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ
Affiliation	Принадлежность к организации
<p><b>Altyнай N. Saaliev</b>, Senior Lecturer, Department «Technology of Public Catering Products», I. Razzakov Kyrgyz State Technical University 66 Ch. Aitmatov Ave., Bishkek, Kyrgyz Republic Tel.: +996–555–745–041 E-mail: altyнай.saaliev.76@mail.ru ORCID: <a href="https://orcid.org/0000-0002-8367-4080">https://orcid.org/0000-0002-8367-4080</a> * corresponding author</p>	<p><b>Саалиева А. Н.</b> — старший преподаватель, кафедры «Технология продуктов общественного питания», Кыргызский государственный технический университет им. И. Раззакова 720044, Кыргызская Республика, Бишкек, проспект Ч. Айтматова, 66 Тел.: +996–555–745–041 E-mail: altyнай.saaliev.76@mail.ru ORCID: <a href="http://orcid.org/0000-0002-8367-4080">http://orcid.org/0000-0002-8367-4080</a> * автор для контактов</p>
<p><b>Aigul M. Usubaliev</b>, Candidate of Chemical Sciences, Docent, Department “Food Engineering” Kyrgyz-Turkish Manas University, 56 Ch. Aitmatov Ave., Bishkek, Kyrgyz Republic, 720044 Тел.: +996–555–917–676 E-mail: ausubaliev@manas.edu.kg ORCID: <a href="http://orcid.org/0000-0001-6597-4234">http://orcid.org/0000-0001-6597-4234</a></p>	<p><b>Усубалиева А. М.</b> — кандидат химических наук, доцент, кафедры «Пищевая инженерия», Кыргызско-Турецкий университет «Манас» 720044, Кыргызская Республика, Бишкек, проспект Ч. Айтматова, 56 Тел.: +996–555–917676 E-mail: ausubaliev@manas.edu.kg ORCID: <a href="http://orcid.org/0000-0001-6597-4234">http://orcid.org/0000-0001-6597-4234</a></p>
<p><b>Mukarama M. Musulmanova</b>, Doctor of Technical Sciences, Professor, Head of the Department Food Production Technology, I. Razzakov Kyrgyz State Technical University, 66 Ch. Aitmatov Ave., Bishkek, Kyrgyz Republic Тел.: +996–555–939–984 E-mail: mmusulmanova@kstu.kg ORCID: <a href="http://orcid.org/0000-0002-4205-2875">http://orcid.org/0000-0002-4205-2875</a></p>	<p><b>Мусульманова М. М.</b> — доктор технических наук, профессор, заведующая кафедрой «Технология производства продуктов питания», Кыргызский государственный технический университет им. И. Раззакова 720044, Кыргызская Республика, Бишкек, проспект Ч. Айтматова, 66 Тел.: +996–555–939–984 E-mail: mmusulmanova@kstu.kg ORCID: <a href="http://orcid.org/0000-0002-4205-2875">http://orcid.org/0000-0002-4205-2875</a></p>
Contribution	Критерии авторства
<p><b>Altyнай N. Saaliev</b>: organization of the experiment, literature search, discussion of the results of the analysis, writing the article. <b>Aigul M. Usubaliev</b>: organization of the experiment, literature search, discussion of the results of the analysis, writing the article. <b>Mukarama M. Musulmanova</b>: guidance and consultations, direction of research and discussion of the results of the analysis, correction of the article.</p>	<p><b>А. Н. Саалиева</b>, организация эксперимента, поиск литературы, обсуждение результатов анализа, написание статьи. <b>А. М. Усубалиева</b>, организация эксперимента, поиск литературы, обсуждение результатов анализа, написание статьи. <b>М. М. Мусульманова</b>, руководство и консультации, направление исследований и обсуждение результатов анализа, корректировка статьи.</p>
Conflict of interest	Конфликт интересов
The authors declare no conflict of interest.	Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

DOI: <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2024-7-1-99-104>



Received 13.08.2023

Accepted in revised 16.03.2024

Accepted for publication 20.03.2024

© Rahmah L., Ansori A. N. M., Sari N. I. P., 2024

Available online at <https://www.fsjour.com/jour>

Original scientific article

Open access

## INCREASING THE CONTENT OF FIBER AND MINERALS IN GNOCCHI WITH ADDED DRAGON FRUIT PEELS AS SUBSTITUTION OF INGREDIENT FOR IMPROVEMENT OF FOOD PRODUCT QUALITY AND HUMAN HEALTH

Latifahtur Rahmah<sup>1\*</sup>, Arif N. M. Ansori<sup>2,3,4</sup>, Novi I. P. Sari<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Akademi Kuliner dan Patiseri OTTIMMO Internasional, Surabaya, Indonesia

<sup>2</sup> Postgraduate School, Universitas Airlangga, Surabaya, Indonesia

<sup>3</sup> Uttaranchal Institute of Pharmaceutical Sciences, Uttaranchal University, Dehradun, India

<sup>4</sup> Division of Research and Development, Jalan Tengah, Surabaya, Indonesia

### KEY WORDS:

*Hylocereus undatus, nutrition, pasta, zero hunger*

### ABSTRACT

Gnocchi is a type of homemade pasta made from potatoes, flour and eggs. Improving food product quality in terms of nutrition in gnocchi products it is possible now also use food waste. In addition to improvement of food product quality and human health, the addition of dragon fruit peel, which is considered as waste, can provide reasonable solutions or ideas about recycling of food waste. In this study, the produced food product was gnocchi with addition of by-product — dragon fruit peel, which was tested for fiber content and content of the following minerals: iron, potassium, calcium. The data obtained were then analyzed statistically by the SPSS program to determine the effect of variation using the T-test. Based on the results of the study it was concluded that the content of dietary fiber of dragon fruit peel in the sample of gnocchi denoted as F3 featured the highest water-soluble dietary fiber content with a score of 1.33%, water insoluble dietary fiber content with a score of 1.86% and total dietary fiber content with a score of 3.19%. This also shows that the more dragon fruit peel is added, the higher is the total dietary fiber content in gnocchi with addition of dragon fruit peel. This high dietary fiber will be beneficial to humans, especially good for the digestive system. Meanwhile, the mineral content of gnocchi with dragon fruit peel also showed that the F3 sample had the highest mineral content, in particular — iron (Fe) in amount of 1.886 mg/100 g, potassium (K) 6.179 mg/100 g, and calcium (Ca) in amount of 25.339 mg/100 g. This also shows that the addition of dragon fruit peel is useful for improvement of human health and the quality of food product, i. e. gnocchi by increasing the total content of dietary fiber and improving the mineral composition of gnocchi due to addition of dragon fruit peel.

ACKNOWLEDGEMENTS: We thank LPPM Akademi OTTIMMO for providing support in carrying out this research and the OTTIMMO Academy Lab for providing the opportunity, permission, place and support for the implementation of this research. We also thank Jalan Tengah, Indonesia (<http://jalan-tengah.site/>) for editing the manuscript.

Поступила 13.08.2023

Поступила после рецензирования 16.03.2024

Принята в печать 20.03.2024

© Рахмах Л., Анзори А. Н. М., Сари Н. И. П., 2024

<https://www.fsjour.com/jour>

Научная статья

Open access

## УВЕЛИЧЕНИЕ СОДЕРЖАНИЯ КЛЕТЧАТКИ И МИНЕРАЛОВ В НЬОККИ С ДОБАВЛЕНИЕМ КОЖУРЫ ПИТАХАЙИ, ИСПОЛЬЗУЕМОЙ В КАЧЕСТВЕ ЗАМЕНИТЕЛЯ ИНГРЕДИЕНТА, ДЛЯ УЛУЧШЕНИЯ КАЧЕСТВА ПИЩЕВОГО ПРОДУКТА И ПОДДЕРЖАНИЯ ЗДОРОВЬЯ ЧЕЛОВЕКА

Рахмах Л.<sup>1,\*</sup>, Анзори А. Н. М.<sup>2,3,4</sup>, Сари Н. И. П.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Международная академия кулинарии и кондитерских изделий OTTIMMO, Сурабая, Индонезия

<sup>2</sup> Аспирантура, Университет Айрланга, Сурабая, Индонезия

<sup>3</sup> Уттаранчальский институт фармацевтических наук, Университет Уттаранчал, Дехрадун, Индия

<sup>4</sup> Отдел исследований и разработок, Jalan Tengah, Сурабая, Индонезия

### КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: АННОТАЦИЯ

*Hylocereus undatus, питание, макароны, нулевой голод*

Ньокки, или клецки — это разновидность домашней пасты, приготовленной из картофеля, муки и яиц. Улучшить качество пищевых продуктов, а в частности — ньокки, в плане их питательности теперь можно и с помощью побочных продуктов, при переработке другого вида сырья. Помимо улучшения качества пищевых продуктов и поддержания здоровья человека, добавление кожуры питахайи (драгонфрут, драконьего фрукта), которые считаются побочными продуктами при переработке данного фрукта, может стать разумным решением или идеей по ее переработке. В данном исследовании произведенный пищевой продукт представлял собой ньокки с добавлением побочного продукта — кожуры питахайи, который затем подвергался анализу на содержание клетчатки и следующих минералов: железа, калия, кальция. Полученные данные затем подвергались статистическому анализу с использованием программы SPSS для определения эффекта вариации с помощью T-теста. По результатам исследования был сделан вывод, что содержание пищевых волокон кожуры драконьего фрукта в образце ньокки, обозначенном как F3, характеризовалось самым высоким содержанием водорастворимых пищевых волокон, равным 1,33%, содержанием водонерастворимых пищевых волокон, равным 1,86%, и общим содержанием пищевых волокон, равным 3,19%. Это также показывает, что чем больше добавляется кожуры питахайи, тем выше становится общее содержание пищевых волокон в ньокки, приготовленных с добавлением кожуры питахайи. Такое высокое содержание клетчатки будет полезно для человека, особенно полезно для пищеварительной системы. Между тем, содержание минеральных веществ в ньокки, приготовленных

FOR CITATION: Rahmah, L., Ansori, A. N. M., Sari, N. I. P. (2024). Increasing the content of fiber and minerals in gnocchi with added dragon fruit peels as substitution of ingredient for improvement of food product quality and human health. *Food Systems*, 7(1), 99–104. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2024-7-1-99-104>

ДЛЯ ЦИТИРОВАНИЯ: Рахмах, Л., Анзори, А. Н. М., Сари, Н. И. П. (2024). Увеличение содержания клетчатки и минералов в ньокки с добавлением кожуры питахайи, используемой в качестве заменителя ингредиента, для улучшения качества пищевого продукта и здоровья человека. *Пищевые системы*, 7(1), 99–104. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2024-7-1-99-104>

с добавлением кожуры питахайи, также показало, что образец под обозначением F3 имел самое высокое содержание минералов, в частности — железа (Fe) в количестве 1,886 мг/100 г, калия (K) в количестве 6,179 мг/100 г, и кальция (Ca) — 25,339 мг/100 г. Это также показывает, что добавление в продукт кожуры питахайи улучшает здоровье человека и повышает качество пищевых продуктов, это же относится и к ньокки за счет увеличения общего содержания пищевых волокон и улучшения минерального качественного состава за счет добавления кожуры питахайи.

**БЛАГОДАРНОСТЬ:** Мы благодарим LPPM Akademi OTTIMMO за поддержку в проведении этого исследования и лабораторию OTTIMMO Academy Lab за предоставление возможности, разрешения, места и поддержки для реализации этого исследования. Мы также благодарим Jalan Tengah, Индонезия (<http://jalantengah.site/>) за редактирование рукописи.

## 1. Introduction

Food waste is a concept of the final stage of the food chain. It is obtained at stages of the distribution, retail, its processing at household or restaurant. We need to start analyzing the need to manage waste rationally and intelligently with the aim of reducing the risk of lowering down the comfort of life [1]. It is estimated that the world discards more than 1 billion tons of food waste, which is one third of the annual food production [2]. One of the negative contributions to the environment comes from food waste, which can cost society and households a great deal of money [3]. Household food waste is caused by poor practices of food handling [4]. The main challenge in solving the food waste problem is the lack of knowledge, analysis and solution methods [5]. Other studies have shown that moral principles can directly influence patterns of food disposal behavior, eating habits, food consumption patterns, knowledge or ideas about food recycling [6].

There is a study that considers the types of food that are often thrown away by students at least once a week, shows the percentage of each type of food consisting of fruits, vegetables, and bread (perishable food) [7]. Waste disposal of different types of vegetables and fruits is an activity that is often practiced in food processing production [8]. The recycling of fruit and vegetable waste (FVW) is a major challenge due to its damage-sensitive nature and heterogeneity [9]. As a food ingredient, fruit and vegetable waste is readily available, inexpensive, and facilitates the improvement of the environmental situation by reducing the volume of waste via its processing [10].

Food waste is a problem that needs to be solved in addition to education, one of which is to conduct research on the reprocessing of food waste produced by the consumers. The processing of food waste generally aims to provide positive impact on the global community. One type of fruit that has food waste potential is dragon fruit; the outer part or skin of dragon fruit, which is quite large and heavy, is simply discarded without further processing [11].

Dragon fruit [*Hylocereus* spp.], an exotic fruit originating from South America. Dragon fruit belongs to the Cactaceae family and is a popular fruit in Asia with high nutritional content [12,13]. The total calorie count of dragon fruit is very low compared to other fruits. In addition, dragon fruit also provides a high amount of various minerals, including potassium, magnesium, calcium, iron, copper, and contains vitamins, especially vitamin C, biotin, K1, and D [14].

There are five main species that are distinguished based on the characteristics of the fruit, specifically I) *H. undatus* with white flesh and pink skin, II) *H. polyrhizus*, red flesh and pink skin, III) *H. costaricensis* and red-purple flesh and pink skin, IV) *H. guatemalensis* with red flesh and reddish-orange skin, and the last one V) *H. megalanthus* white flesh and yellow skin. Dragonfruit flesh peculiar feature are black speckled seeds that can be eaten. Other characteristics of dragon fruit are that it has a sweet taste, is high in nutrients such as soluble sugars, protein and minerals such as potassium, magnesium and calcium [15,16].

Dragon fruit is one of the exotic fruit species that has received relatively little research in the food and pharmaceutical industries. However, the regeneration system of red dragon fruit or *H. polyrhizus* is highly efficient [17]. Consumers are very interested in dragon fruit because of its unique shape and resistance to the threat of drought, so it is known to be high in nutrients. The polyphenols are extracted from dragon fruit peel in the production of dragon fruit peel juice and puree [18].

Pitaya or dragon fruit is a plant that has an exotic color, nutrients and antioxidants that are very good, while the skin contains betalain, flavonoids and phenols that are a good source of extracts for human health. The color of dragon fruit peel waste and flesh has pigment of stable strength, containing in particular with betalain, which contains nitrogen composed of betacyanin and betaxanthin [19]. Betalain pigment in dragon fruit is useful because it contains a lot of polyphenols, vitamins, sugars, amino acids, and has natural elements that are used for maintenance of health because it contains betalain pigment [20,21]. Red dragon fruit peels (*H. undatus*) is very effective when used, and the extract contains nutritional phytochemical components and also has antioxidant activity

[22,23]. Dragon fruit peel can add value to the industry as the extract from red dragon fruit peel [24].

Dragon fruit peel waste can be recycled into various types of food. Recycling is not only used for processing the food wastes, but also for adding nutritional value to a food. Several studies have found out how to transform dragon fruit peels into dessert pies, nata, and cookies [11,25,26]. The type of utilization of dragon fruit peels waste for savory food has also been studied, especially dragon fruit peels processed into meatballs, chicken nuggets, and tempe [27,28,29]. Dragon fruit peel has potential as a source of purplish red color with moderate antioxidant activity for food decoration [30]. One of the inspiring studies on the addition of dragon fruit peel is the use of dragon fruit peel in noodles [31]. From previous studies, it can be concluded that dragon fruit peel can be recycled into various products. One of the foods that can be used as an innovation is dragon fruit peel gnocchi noodles.

Pasta is a delicious favorite and signature dish of many of the world's most famous chefs, and a comfort food for millions of people worldwide. Pasta is often referred to as a fattening food, so it is necessary to formulate a functional pasta that possesses functional properties and nutritional value. Different formulations of pasta have been developed to improve its nutritional profile [32,33]. Gnocchi pasta is one of the most popular and appreciated Italian dishes, gnocchi is also often called as potato-based pasta [34,35].

There are different types of gnocchi innovations, one of which is the addition of orange-fleshed sweet potatoes to make it an interesting innovative food product [36]. Gnocchi are made of potatoes, flour, eggs and salt. It is made by boiling whole raw potatoes, then mashing them and finally mixing them with other ingredients. The dough is then formed into small pieces with the typical shape of gnocchi. Finally, the gnocchi are cooked using the method of boiling. The quality of gnocchi is usually judged by its color, cooking quality and texture. Cooked gnocchi should remain firm and not lose any solids into the cooking water, and should not become sticky when left to rest a little after cooking [35].

In Using dragon fruit peel in gnocchi food products apart from reducing fruit waste and turning the food ingredients into new products in such a way that the product will have a higher usability; the main focus of dragon fruit peel gnocchi processing is to produce products with better content of fiber and minerals. In addition, this study aims to determine the effect of dragon fruit peel substitution on fiber and minerals iron, potassium, calcium in gnocchi.

## 2. Objects and methods

The making of dragon fruit skin gnocchi is carried out in the Akademi Kuliner dan Patiseri OTTIMMO Internasional Kitchen Lab while the nutritional analysis of dragon fruit skin gnocchi was carried out at the Nutrition Laboratory, Faculty of Public Health, Universitas Airlangga, Surabaya, Indonesia using international standard tests.

### 2.1. Ingredients for making dragon fruit peels gnocchi

The ingredients used in the manufacture of dragon fruit peels gnocchi is shown in Table 1.

Table 1. Gnocchi formulation

Таблица 1. Состав ньокки

Ingredients	F1 100%:0%	F2 90%:10%	F3 80%:20%
Potato	500 g	450 g	400 g
All purpose flour	125 g	125 g	125 g
Parmesan chesse	50 g	50 g	50 g
Salt	3 g	3 g	3 g
White peper	1 g	1 g	1 g
Egg	50 g	50 g	50 g
Gragon fruit peel	0	50 g	100 g

## 2.2. Methods for making dragon fruit peels gnocchi

This study is experimental research, where the object to be studied is deliberately made by conducting real experiments in the real life environment with the intention of seeing the results of the processing. In this study, the food being produced was dragon fruit peel gnocchi, which was tested for fiber content and minerals iron, potassium, calcium. The processing used was the addition or substitution of potatoes with dragon fruit peel at various ratios, specifically 100%:0%, 90%:10% and 80%:20%. The gnocchi cooking process consists of steaming and then mashing the potatoes, smoothing the dragon fruit peel, mixing all the ingredients, forming the dough, boiling the dough and finally resting the gnocchi. The gnocchi were also tested for fiber and mineral content.

### 2.2.1. Fiber content measurements dragon fruit peels waste gnocchi

According to Stelmock et al. [37], the Van Soest method of acid detergent fiber (ADF) analysis is as follows: 1) Weighing (OHAUS Pioneer PX 2202 E, Shanghai, China) the dragon fruit peel gnocchi sample weighing of 0.3 gram then was placed in a 50 mL test tube; 2) Adding 40 mL of ADF solution then closing the test tube tightly; 3) Cooking in boiling water for 1 hour; 4) Filtering with sintered glass of known weight while sucking with a vacuum pump; 5) Washing with approximately 100 mL of boiling water until the foam disappears, and washing with 50 mL of alcohol; 6) Baking (Memmert UN55, Germany) at 100 °C for 8 hours or leave overnight; 7) Cooling in a desiccator (DURAN NOVUS NS24/29, Germany) approximately one hour after weighing [37].

The Van Soest acid detergent fiber method can also be used to determine the fiber content in shellfish chitin, the results show that chitin is a significant fibrous fraction. In the research method before analysis, tanner crab meal (TCM) samples were separated by 40-mesh sieve (US equivalent of a Tyler Standard sieve) into two fractions, coarse (>40-mesh) and fine (<40-mesh) (6), and these two fractions were compared with the standard commercial TCM. Total nitrogen was determined on shellfish meal samples before and after ADF analysis with an automatic continuous flow methodology in an auto analyzer II system (8, 20). Crude protein contents for shellfish meal substrates were corrected for chitin nitrogen based on 6.7% nitrogen (N) in chitin. Percent chitin ADF methods of analysis were calculated as:  $(A = 100(B - C)/D)$  where: A = percent chitin; B = oven dry weight of residue; C = residual ash weight; D = original dry sample weight [37].

### 2.2.2. Mineral content measurements in the dragon fruit peels gnocchi

Mineral concentration is an important value to determine the nutritional quality of a food. In this study, the levels of iron, potassium and calcium were determined using the AAS method. The advantages of the Atomic Absorption Spectrometer (AAS) (230ATS AAS Buck Scientific, USA) method are high sensitivity, good accuracy, low cost and relative simplicity. The principle of testing the content of minerals by AAS is the absorption of light by free atoms in the gas phase. The concentration of the analyte is determined by the amount of light absorbed at a specific wavelength. The solid sample of gnocchi is crushed finely to form Food Matrix infant formula. AAS provides high sensitivity, good precision, low cost, relative simplicity [38].

## 2.3. Data processing and statistical analysis

All data were obtained using a randomized design and then statistically analyzed using the SPSS19.0 program to determine the effect of variation using the T-test.

## 3. Results and discussion

### 3.1. Fiber content

Dietary fiber is identified based on its composition, analysis, and physiological activity [39]. Total dietary fiber consists of soluble dietary fiber and insoluble dietary fiber [40].

#### 3.1.1. Level of water-soluble food fiber content of dragon fruit peels gnocchi

The results analysis of the water-soluble food fiber content on dragon fruit peels gnocchi are shown in Table 2.

Based on Table 2, the average content of water soluble food fiber in all samples was 1.21%, while sample F3 had the highest water soluble food fiber content in amount of 1.33%. After obtaining the data from the laboratory tests, the data were analyzed using the T-test at  $p \leq 0.05$ . The results obtained were significantly different for the samples F1, F2 and F3 indicated by the Sig value, which is less than 0.05.

Table 2. The results analysis of the water soluble food fiber content on dragon fruit peels waste gnocchi

Таблица 2. Результаты анализа на содержание водорастворимой пищевой клетчатки в ньокки, приготовленных с добавлением кожуры питахайи

Sample	Water Soluble Food Fiber (%)
F1	1.09
F2	1.21
F3	1.33

Note: Different superscript numbers in the same column indicate significant differences ( $\alpha = 5\%$ ).

#### 3.1.1. Content of water insoluble food fiber content of dragon fruit peels gnocchi

The results of the analysis of the water-soluble food fiber content on dragon fruit peels gnocchi are shown in Table 3.

Table 3. The results of analysis of the water insoluble food fiber content on dragon fruit peels waste gnocchi

Таблица 3. Результаты анализа на содержание нерастворимой в воде пищевой клетчатки в ньокки, приготовленных с добавлением кожуры питахайи

Sample	Water insoluble food fiber (%)
F1	1.67
F2	1.75
F3	1.86

Note: Different superscript numbers in the same column indicate significant differences ( $\alpha = 5\%$ ).

Based on Table 3, the average content of water insoluble food fiber in all samples was 1.76%, while sample F3 had the highest water insoluble food fiber content in amount of 1.86%. After obtaining the data from the laboratory tests, the data were analyzed using the T-test at  $p \leq 0.05$ . The results obtained were significantly different for the samples F1, F2 and F3 indicated by the Sig value, which is less than 0.05.

#### 3.1.2 Total food fiber content in dragon fruit peels gnocchi

The results of analysis of the total food fiber content in dragon fruit peels gnocchi are shown in Table 4.

Table 4. The results of analysis of the total food fiber content on dragon fruit peels gnocchi

Таблица 4. Результаты анализа на общее содержание пищевой клетчатки в ньокки, приготовленных с добавлением кожуры питахайи

Sample	Total Food Fiber (%)
F1	2.76
F2	2.96
F3	3.19

Note: Different superscript numbers in the same column indicate significant differences ( $\alpha = 5\%$ ).

Based on Table 4, the average total food fiber content of the total sample was 2.97%, where sample denoted as F3 has the highest total food fiber content in amount of 3.19%.

Red dragon fruit or commonly called *H. polyrhizus* has a skin that is generally disposed of as waste; the skin has a relatively large weight, which is about 22% of the total weight of the red dragon fruit. The total dietary fiber contained in red dragon fruit peel waste has a very high percentage of about 69.3%, among them 14.82% soluble dietary fiber (SDF) and 56.50% insoluble dietary fiber (IDF) [41]. Dietary fiber is the portion of plant material in foods that is resistant to enzymatic digestion [42]. In addition, dragon fruit peel is a natural functional food ingredient that has a relatively high total dietary fiber, so the more it is used, the higher the fiber content of dragon fruit peel gnocchi is. After obtaining the data from the laboratory tests, the data were analyzed using the T-test at  $p \leq 0.05$ . The results obtained were significantly different for the samples F1, F2 and F3 indicated by the Sig value, which is less than 0.05.

In red dragon fruit, fiber has an inherent pigment called betacyanin that gives a distinctive red color [43]. In humans, dietary fiber can also aid intestinal motility, increase insulin sensitivity, and increase satiety, allowing people to reduce their overall energy intake [44]. The coloring of foods not only provides a pleasant color, but also enhances the attractiveness and gives the product its natural value [45]. The beneficial effect given by dietary fiber, when consumed, will help fight diseases, while being non-carbohydrate components [46]. The high fiber content may func-

tion to facilitate bowel movements in human bodies [47]. The beneficial properties of soluble dietary fiber have been attributed to its important role in human physiological functions consisting of lowering cholesterol levels, lowering blood pressure levels, preventing gastrointestinal problems, protecting against some cancers, increasing the bioavailability of minerals, and many others. Dietary fiber has a potential functional role in regulating physical and human health [40,48]. In general, foods rich in dietary fiber have a low glycemic index (GI). Foods with a low glycemic index and high fiber content benefits for the human health such as reducing postprandial glucose, improving insulin responses, improving lipid profiles and reducing insulin resistance. In addition, the daily diet of normal people (non-diabetics) with the consumption of carbohydrate-rich foods that are high in fiber and low in GI may protect against several diseases such as *diabetes mellitus* and cardiovascular diseases [49].

### 3.2. Minerals content

Dragon fruit peels gnocchi were tested for content of minerals – iron, potassium, calcium.

#### 3.2.1. Content of iron (Fe) in dragon fruit peels gnocchi

The results of analysis of the iron (Fe) content in dragon fruit peels gnocchi are shown in Table 5.

Table 5. The results of analysis of Fe content in dragon fruit peels gnocchi

Таблица 5. Результаты анализа на содержание железа (Fe) в ньокки, приготовленных с добавлением кожуры питахайи

Sample	Iron (Fe) Content (mg/100 g)
F1	1.759
F2	1.797
F3	1.886

Note: Different superscript numbers in the same column indicate significant differences ( $\alpha = 5\%$ ).

Based on Table 5, the average content of iron (Fe) in all samples was 1.814 mg/100 g, where sample F3 had the highest Fe content in amount of 1.886 mg/100 g. After obtaining data from laboratory tests, the data were analyzed using T-test at  $p \leq 0.05$ . The results obtained were significantly different for the samples F1, F2 and F3 indicated by the Sig value which is smaller than 0.05. The dragon fruit peel sample featured the concentration of fatty iron (Fe) of 273,955 ppm. Iron is an essential nutrient for humans, especially for women between the ages of 14 and 50, pregnant women, and infants in the first months of life who need to get an adequate supply of iron [50,51].

#### 3.2.2 Content of potassium (K) in dragon fruit peels gnocchi

The results of analysis of the potassium (K) content in dragon fruit peels gnocchi are shown in Table 6.

Table 6. The results analysis of potassium (K) content in dragon fruit peels gnocchi

Таблица 6. Результаты анализа на содержание калия (K) в ньокки, приготовленных с добавлением кожуры питахайи

Sample	Potassium (K) Content (mg/100 g)
F1	5.764
F2	5.888
F3	6.179

Note: Different superscript numbers in the same column indicate significant differences ( $\alpha = 5\%$ ).

Based on Table 6, the average content of potassium (K) in all samples was 5.944 mg/100 g, while sample F3 had the highest potassium content in amount of 6.179 mg/100 g. After obtaining the data from the laborato-

ry tests, the data were analyzed using the T-test at  $p \leq 0.05$ . The results obtained were significantly different for the samples F1, F2 and F3 indicated by the Sig value, which is less than 0.05. In dragon fruit peel, the element with the highest concentration is potassium at rate of 1081 ppm. Potassium is very important for maintaining water content and acid balance in the body, therefore dragon fruit peel is a good source of potassium [50].

#### 3.2.3 Content of calcium (Ca) in dragon fruit peels gnocchi

The results of analysis of the calcium (Ca) content in dragon fruit peels gnocchi are shown in Table 7.

Table 7. The results of analysis of calcium (Ca) content in dragon fruit peels gnocchi

Таблица 7. Результаты анализа на содержание кальция (Ca) в ньокки, приготовленных с добавлением кожуры питахайи

Sample	Calcium (Ca) Content (mg/100 g)
F1	23.638
F2	24.148
F3	25.339

Note: Different superscript numbers in the same column indicate significant differences ( $\alpha = 5\%$ ).

Based on Table 7, the average calcium (Ca) content in all samples was 24.375 mg/100 g, while sample F3 had the highest calcium content in amount of 25.339 mg/100 g. After obtaining data from laboratory tests, the data were analyzed using the T-test at  $p \leq 0.05$ . The results obtained were significantly different for the samples F1, F2 and F3 indicated by the Sig value, which is less than 0.05.

The concentration of calcium in dragon fruit peel is 9.75 ppm = 0.975 mg/100 g [52]. Calcium is used to build a skeleton during a person's childhood, which is important to prevent osteoporosis later in life [53]. Innovative food products need to be developed because humans have now started to think about it and prioritize their health, the type of food they eat, and the exercise they do to stay away from health problems [54]. Increasing the digestibility of calcium, iron and magnesium can prevent the development of osteoporosis [55].

## 4. Conclusion

Based on the results of the study, it was concluded that the dietary fiber content of dragon fruit peel gnocchi in the sample F3 had the highest water soluble dietary fiber content in amount of 1.33%, water insoluble dietary fiber content in amount of 1.86%, and total dietary fiber content in amount of 3.19%. This also shows that the more dragon fruit peel is added, the higher is the total dietary fiber content in dragon fruit peel gnocchi. This high dietary fiber will be beneficial to human health, especially good for the digestive system. Meanwhile, the mineral content of gnocchi in dragon fruit peel also showed that the sample F3 had the highest mineral content, specifically iron (Fe) in amount of 1.886 mg/100 g, potassium (K) in amount of 6.179 mg/100 g, and calcium (Ca) in amount of 25.339 mg/100g. This also shows that the more dragon fruit peel is added, the higher is the mineral content in dragon fruit peel gnocchi. The addition of dragon fruit peel is useful in improving the quality of food products, in addition to increasing the total content of dietary fiber in dragon fruit peel gnocchi, it can also improve the mineral composition of dragon fruit peel gnocchi products, at since the level of iron (Fe) is an important nutrient for human health, especially for women and children, as well as the infants who need to get an adequate supply of iron. Potassium (K) is essential for maintaining the body's acid balance, and calcium (Ca) which serves to build the skeleton in a person's childhood and is important for preventing osteoporosis later in life. The development of innovation food product can be used to raise nutrition value to the food product that is very suitable for people who prioritize health.

## REFERENCES

- Seberini, A. (October 9–10, 2019). *Economic, social and environmental world impacts of food waste on society and Zero waste as a global approach to their elimination*. The 19th International Scientific Conference Globalization and its Socio-Economic Consequences 2019 – Sustainability in the Global-Knowledge Economy. Rajceke Teplice, Slovakia. <https://doi.org/10.1051/shsconf/20207403010>
- Habashy, M.M., Ong, E. S., Abdeldayem, O.M., Al-Sakkari, E.G., Rene, E.R. (2021). Food waste: A promising source of sustainable biohydrogen fuel. *Trends in Biotechnology*, 39(12), 1274–1288. <https://doi.org/10.1016/j.tibtech.2021.04.001>
- Kim, J., Rundle-Thiele, S., Knox, K., Burke, K., Bogomolova, S. (2020). Consumer perspectives on household food waste reduction campaigns. *Journal of Cleaner Production*, 243, Article 118608. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2019.118608>
- Principato, L., Mattia, G., Di Leo, A., Pratesi, C.A. (2021). The household wasteful behaviour framework: A systematic review of consumer food waste. *Industrial Marketing Management*, 95, 641–649. <https://doi.org/10.1016/j.indmarman.2020.07.010>
- Withanage, S.V., Dias, G.M., Habib, K. (2021). Review of household food waste quantification methods: Focus on composition analysis. *Journal of Cleaner Production*, 279, Article 123722. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2020.123722>
- Aydin, A.E., Yildirim, P. (2021). Understanding food waste behavior: The role of morals, habits and knowledge. *Journal of Cleaner Production*, 280(1), Article 124250. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2020.124250>



7. Mondéjar-Jiménez, J.A., Ferrari, G., Secondi, L., Principato, L. (2016). From the table to waste: An exploratory study on behaviour towards food waste of Spanish and Italian youths. *Journal of Cleaner Production*, 138(1), 8–18. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2016.06.018>
8. Gavahian, M., Sastry, S.K. (2020). Ohmic-assisted peeling of fruits: Understanding the mechanisms involved, effective parameters, and prospective applications in the food industry. *Trends in Food Science and Technology*, 106, 345–354. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2020.10.027>
9. Esparza, I., Jiménez-Moreno, N., Bimbela, F., Ancín-Azpilicueta, C., Gandía, L.M. (2020). Fruit and vegetable waste management: Conventional and emerging approaches. *Journal of Environmental Management*, 265, Article 110510. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2020.110510>
10. Kupaeva, N. V., Kotenkova, E.A. (2019). Search for alternative sources of natural plant antioxidants for food industry. *Food Systems*, 2(3), 17–19. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2019-2-3-17-19>
11. Rahmah, L., Ansori, A.N.M., Choiriyah, N.A., Iskandar, H.T., Hadiwirawan, G.Y., Rebezov, M. et al. (2022). Substitution of dragon fruit peels on vitamin C, water content, and fiber in milk pie to improve human health. *Research Journal of Pharmacy and Technology*, 15(8), 3690–3696. <https://doi.org/10.52711/0974-360X.2022.00619>
12. Pedda, K.D., Sai, K.N., Suneetha, P., Bramareswara, R.K., Naresh, K.M., Krishna, M.S.R. (2019). Multiple shoot regeneration in seed-derived immature leaflet explants of red dragon fruit (*Hylocereus costaricensis*). *Research Journal of Pharmacy and Technology*, 12(4), 1491–1494. <https://doi.org/10.5958/0974-360X.2019.00246.4>
13. Cruz, M.M., Reyes, J., Angeles, H.G., Del Rosario, J.M., Lirazan, M.B., Estacio, R.C. et al. (2022). Antioxidant, anti-tyrosinase, and anti-angiogenic activities of dragon fruit (*Hylocereus* spp.). *Food Research*, 6(3), 403–410. [https://doi.org/10.26656/fr.2017.6\(3\).400](https://doi.org/10.26656/fr.2017.6(3).400)
14. Arivalagan, M., Karunakaran, G., Roy, T.K., Dinsha, M., Sindhu, B.C., Shilpashree, V.M. et al. (2021). Biochemical and nutritional characterization of dragon fruit (*Hylocereus* species). *Food Chemistry*, 353(4), Article 12942. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.129426>
15. Tran, D.-H., Yen, C.-R., Chen, Y.-K.H. (2015). Effects of bagging on fruit characteristics and physical fruit protection in red pitaya (*Hylocereus* spp.). *Biological Agriculture and Horticulture*, 31(3), 158–166. <https://doi.org/10.1080/01448765.2014.991939>
16. Silva, A.C.C., Sabião, R.R., ChiamolerA, F.M., Segantini, D.M., Martins, A.B.G. (2017). Morphological traits as tool to verify genetic variability of interspecific dragon fruit hybrids. *Revista Brasileira de Fruticultura*, 39(1), Article e168. <https://doi.org/10.1590/0100-2945201717168>
17. Qin, J., Wang, Y., He, G., Chen, L., He, H., Cheng, X. et al. (2017). High-efficiency micropropagation of dormant buds in spine base of red pitaya (*Hylocereus polyrhizus*) for industrial breeding. *International Journal of Agriculture and Biology*, 19(1), 193–198. <https://doi.org/10.17957/IJAB/15.0264>
18. Bai, X., Zhou, T., Lai, T., Zhang, H. (2018). Optimization of the microwave-assisted extraction of polyphenols from red pitaya peel using response surface methodology. *Journal of Scientific and Industrial Research*, 77(7), 419–424.
19. Hua, Q., Chen, C., Tel Zur, N., Wang, H., Wu, J., Chen, J. et al. (2018). Metabolomic characterization of pitaya fruit from three red-skinned cultivars with different pulp colors. *Plant Physiology and Biochemistry*, 126, 117–125. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2018.02.027>
20. Nur'Aliaa, A.R., Siti Mazlina, M.K., Taip, F.S. (2011). Effects of commercial pectinases application on selected properties of red pitaya juice. *Journal of Food Process Engineering*, 34(5), 1523–1534. <https://doi.org/https://doi.org/10.1111/j.1745-4530.2009.00388.x>
21. Song, H., Chu, Q., Yan, F., Yang, Y., Han, W., Zheng, X. (2016). Red pitaya betacyanins protects from diet-induced obesity, liver steatosis and insulin resistance in association with modulation of gut microbiota in mice. *Journal of Gastroenterology and Hepatology*, 31(8), 1462–1469. <https://doi.org/https://doi.org/10.1111/jgh.13278>
22. Velaga, V.S.A.R., Suryadevara, N., Ying, R.T.C., Ponmurugan P, Devi, G. (2020). Analgesic activity of *Annona squamosa* Linn fruit peels on Swis Albino mice. *Research Journal of Pharmacy and Technology*, 13(7), 3199–3204. <https://doi.org/10.5958/0974-360X.2020.00566.1>
23. Devi, N.K.D., Ganji, S., Maddu, P., Jasti, P., Merla, M., Varicola, K.S. (2014). Antioxidant and anthelmintic potential of *Borassus flabellifer* kernel peels. *Research Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 6(4), 181–186.
24. Yogita, T., Pravin, C., Akshay, M., Akahay, S., Sudam, N., Aditee, K. et al. (2019). *in vivo* and *in-vitro* evaluation of antimicrobial activity of peel extracts of red dragon fruit (*Hylocereus polyrhizus*). *Research Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 11(1), 23–26. <https://doi.org/10.5958/0975-4385.2019.00005.0>
25. Nur'aini, H., Sari, E.R. (October 12–13, 2015). *Quality Identification of Dragon Fruit Peel (Hylocereus undatus) Nata with Sucrose Concentration Variation*. International Seminar on Promoting Local Resources for Food and Health. Bengkulu, Indonesia.
26. Chumroenvidhayakul, S., Thilavech, T., Abeywardena, M. (2023). Dragon fruit peel waste (*hylocereus undatus*) as a potential ingredient for reducing lipid peroxidation, dietary advanced glycation end products, and starch digestibility in cookies. *Antioxidants*, 12(5), Article 1002. <https://doi.org/10.3390/antiox12051002>
27. Rahmah, L., Choiriyah, N.A. (October 13–14, 2022). *Increasing levels of fibre and mineral (Fe, Ca, and K) in chicken meatballs added dragon fruit peel and oyster mushroom*. IOP Conference Series: Earth and Environmental Science, Banda Aceh, Indonesia. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/951/1/012093>
28. Lubis, N., Agustiono, J., Ismail, D., Pradana, T.G. (2020). Effect of red dragon fruit peels (*Hylocereus polyrhizus*) as a natural dye and preservatives on chicken nuggets. *International Journal of Research and Review*, 7(3), 168–174.
29. Damiati, D., Suriani, M. (December 21, 2021). *Nutritional and Organoleptic Quality of Tempe Now with the Addition of Natural Dyeing Ingredients*. Proceedings of the 4th International Conference on Innovative Research Across Disciplines (ICIRAD2021). Atlantis Press. Amsterdam, Paris. <https://doi.org/10.2991/assehr.k.211222.038>
30. Lourith, N., Kanlayavattanukul, M. (2013). Antioxidant and stability of dragon fruit peel colour. *Agro Food Industry Hi Tech*, 24(3), 56–58.
31. Enjelina, W., Rilza, Y.O., Erda, Z. (2019). Utilization of red dragon fruit (*hylocereus polyrhizus* sp.) peel to prolong wet noodles shelf-life. *AcTion: Aceh Nutrition Journal*, 4(1), 63–69.
32. Krishnan, M., Prabhasankar, P. (2012). Health based pasta: Redefining the concept of the next generation convenience food. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 52(1), 9–20. <https://doi.org/10.1080/10408398.2010.486909>
33. Bresciani, A., Pagani, M.A., Marti, A. (2022). Pasta-making process: A Narrative review on the relation between process variables and pasta quality. *Foods*, 11(3), Article 256. <https://doi.org/10.3390/foods11030256>
34. Santagata, G., Zannini, D., Mallardo, S., Boscaino, F., Volpe, M.G. (2021). Nutritional and chemical-physical characterization of fresh pasta gnocchi prepared with sea water as new active ingredient. *Foods*, 10(11), Article 2585. <https://doi.org/10.3390/foods10112585>
35. Alessandrini, L., Balestra, F., Romani, S., Rocculi, P., Rosa, M.D. (2010). Physico-chemical and sensory properties of fresh potato-based pasta (*Gnocchi*). *Journal of Food Science*, 75(9), S542–S547. <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2010.01842.x>
36. da Silva, E.M.M., Rossini, A.F., de Carvalho, J.L.V. (2016). Quality evaluation of gnocchi pasta prepared with orange-fleshed sweet potato. *Bioscience Journal*, 32(1), 81–88. <https://doi.org/10.14393/BJ-v32n1a2016-29598>
37. Stelmock, R.L., Husby, F.M., Brundage, A.L. (1985). Application of van soest acid detergent fiber method for analysis of shellfish chitin. *Journal of Dairy Science*, 68(6), 1502–1506. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(85\)80989-9](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(85)80989-9)
38. Noh, M.F., Gunasegavan, R.D.-N., Khalid, N.M., Balasubramaniam, V., Mustar, S., Rashed, A.A. (2020). Recent techniques in nutrient analysis for food composition database. *Molecules*, 25(19), Article 4567. <https://doi.org/10.3390/molecules25194567>
39. Dai, F.-J., Chau, C.-F. (2017). Classification and regulatory perspectives of dietary fiber. *Journal of Food and Drug Analysis*, 25(1), 37–42. <https://doi.org/10.1016/j.jfda.2016.09.006>
40. Chawla, R., Patil, G.R. (2010). Soluble dietary fiber. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 9, 178–196.
41. Jamilah, B., Shu, C.E., Kharidah, M., Dzulkiyfl, M.A., Noranizan, A. (2011). Physico-chemical characteristics of red pitaya (*Hylocereus polyrhizus*) peel. *International Food Research Journal*, 18, 279–286.
42. Debnath, S., Jawahar, S., Muntaj, H., Purushotham, V., Sharmila, G., Sireesha, K. et al. (2019). A Review on dietary fiber and its application. *Research Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 11(3), 109–113. <https://doi.org/10.5958/0975-4385.2019.00019.0>
43. Bhagya Raj, G.V.S., Dash, K.K. (2020). Ultrasound-assisted extraction of phytochemicals from dragon fruit peel: Optimization, kinetics and thermodynamic studies. *Ultrasonics Sonochemistry*, 68, Article 105180. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2020.105180>
44. Lattimer, J.M., Haub, M.D. (2010). Effects of dietary fiber and its components on metabolic health. *Nutrients*, 2(12), 1266–1289. <https://doi.org/https://doi.org/10.3390/nu2121266>
45. Shanmugasundaram, P., Bavenro, Rujaswini, T. (2019). A review on food coloring agents – safe or unsafe? *Research Journal of Pharmacy and Technology*, 12(5), 2503–2505. <https://doi.org/10.5958/0974-360X.2019.00421.9>
46. Dhingra, D., Michael, M., Rajput, H., Patil, R.T. (2012). Dietary fibre in foods: A review. *Journal of Food Science and Technology*, 49, 255–266. <https://doi.org/10.1007/s15197-011-0365-5>
47. Sathya, K., Nagarajan, K., Jayalakshmi, H., Bharathi, S. (2022). Evaluation of dietary fiber from *Borassus flabellifer* tuber noodles for enhancing bowel movement-Optimization by using Response Surface Methodology. *Research Journal of Pharmacy and Technology*, 15(2), 807–813. <https://doi.org/10.52711/0974-360X.2022.00134>
48. Ali, M.R., Mohamed, R.M., Abdelmaksoud, T.G. (2021). Functional strawberry and red beetroot jelly candies rich in fibers and phenolic compounds. *Food Systems*, 4(2), 82–88. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2021-4-1-82-88>
49. Pivnenko, T. N. (2023). Functional properties of the dietary fibers and their using in the manufacturing technology of fish products. *Food Systems*, 6(2), 233–244. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2023-6-2-233-244>
50. Zain M.A., Nazeri, N.M.Z. (2016). Antioxidant and mineral content of pitaya peel extract obtained using microwave assisted extraction (MAE). *Australian Journal of Basic and Applied Sciences*, 10(17), 63–68.
51. Chakravarty, M., Venugopal, R., Chakraborty, A., Mehta, S.K., Varoda, A. (2022). A study of nutritional status and prevalence of anaemia among the adolescent girls and women of reproductive age of baigatribe accessing antenatal clinic in public health sector in Chhattisgarh, India. *Research Journal of Pharmacy and Technology*, 15(2), 598–604. <https://doi.org/10.52711/0974-360X.2022.00098>
52. Mir-Marqués, A., Domingo, A., Cervera, M.L., de la Guardia, M. (2015). Mineral profile of kaki fruits (*Diospyros kaki* L.). *Food Chemistry*, 172(8), 291–297. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.09.076>
53. Thamarai, Nivetha, Durai Raj V. P.M., Manivannan, S.S. (2018). Calorie measurement: Predicting the nutrient content of food using image analysis. *Research Journal of Pharmacy and Technology*, 11(3), 959–963. <https://doi.org/10.5958/0974-360X.2018.00179.8>
54. Puchkova, T.S., Pikhalo, D.M., Karasyova, O.M. (2019). About the universal technology of processing jerusalem artichoke and chicory for inulin. *Food Systems*, 2(2), 36–43. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2019-2-2-36-43>

AUTHOR INFORMATION	СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ
<b>Affiliation</b>	<b>Принадлежность к организации</b>
<p><b>Latifahur Rahmah</b>, Master Degree, Lecturer, Culinary Art, Akademi Kuliner dan Patiseri OTTIMMO Internasional                      Jalan Bukit Telaga Golf TC-4/2-3 Citraland, Surabaya, East Java, 60115, Indonesia                      Tel.: +628-969-967-17-46                      E-mail: latifahturrahmah@ottimmo.ac.id                      ORCID: <a href="https://orcid.org/0000-0003-1687-264X">https://orcid.org/0000-0003-1687-264X</a>                      * corresponding author</p>	<p><b>Рахмах Латифахтор</b> — магистр, преподаватель, Международная академия кулинарии и кондитерских изделий OTTIMMO                      60115, Индонезия, Восточная Ява, Сурабая, ул. Гольф-Клуб Букит Телага TC-4/2-3                      Тел.: +628-969-967-17-46                      E-mail: latifahturrahmah@ottimmo.ac.id                      ORCID: <a href="https://orcid.org/0000-0003-1687-264X">https://orcid.org/0000-0003-1687-264X</a>                      * автор для контактов</p>
<p><b>Arif N. M. Ansori</b>, Ph.D. in Veterinary Science, Researcher, Postgraduate School, Universitas Airlangga                      Jl. Airlangga 4-6, Surabaya, East Java, 60115, Indonesia                      Tel.: +628-214-464-78-32                      E-mail: ansori.anm@gmail.com                      ORCID: <a href="https://orcid.org/0000-0002-1279-3904">https://orcid.org/0000-0002-1279-3904</a></p>	<p><b>Анзори Ариф Нур Мухаммад</b> — PhD, Доктор ветеринарных наук, научный сотрудник аспирантуры, Университет Айрланга                      60115, Индонезия, Восточная Ява, Сурабая, округ Мулиорехо, Джл. Airlangga 4-6,                      Тел.: +628-214-464-78-32                      E-mail: ansori.anm@gmail.com                      ORCID: <a href="https://orcid.org/0000-0002-1279-3904">https://orcid.org/0000-0002-1279-3904</a></p>
<p><b>Novi I. P. Sari</b>, Master Degree, Lecturer, Culinary Art, Akademi Kuliner dan Patiseri OTTIMMO Internasional                      Jalan Bukit Telaga Golf TC-4/2-3 Citraland, Surabaya, East Java, 60115, Indonesia                      Tel.: +628-231-402-95-44                      E-mail: novindah@ottimmo.ac.id                      ORCID: <a href="https://orcid.org/0009-0008-5225-4738">https://orcid.org/0009-0008-5225-4738</a></p>	<p><b>Сари Нови Индах Пермата</b> — магистр, преподаватель, Международная академия кулинарии и кондитерских изделий OTTIMMO                      60115, Индонезия, Восточная Ява, Сурабая, ул. Гольф-Клуб Букит Телага TC-4/2-3                      Тел.: +628-231-402-95-44                      E-mail: novindah@ottimmo.ac.id                      ORCID: <a href="https://orcid.org/0009-0008-5225-4738">https://orcid.org/0009-0008-5225-4738</a></p>
<b>Contribution</b>	<b>Критерии авторства</b>
<p>Authors equally relevant to the writing of the manuscript, and equally responsible for plagiarism.</p>	<p>Авторы в равных долях имеют отношение к написанию рукописи и одинаково несут ответственность за плагиат.</p>
<b>Conflict of interest</b>	<b>Конфликт интересов</b>
<p>The authors declare no conflict of interest.</p>	<p>Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.</p>

DOI: <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2024-7-1-105-113>

Поступила 07.02.2024

Поступила после рецензирования 22.03.2024

Принята в печать 26.03.2024

© Мягконос Д. С., Топникова Е. В., Абрамов Д. В., Кашникова О. Г., 2024

<https://www.fsjour.com/jour>

Научная статья

Open access

## ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ТУРБИДИМЕТРИИ ДЛЯ ОЦЕНКИ ТЕПЛОВОЙ НАГРУЗКИ ПРИ ПАСТЕРИЗАЦИИ МОЛОКА

Мягконос Д. С., Топникова Е. В., Абрамов Д. В., Кашникова О. Г.

Всероссийский научно-исследовательский институт маслоделия и сыроделия — Углич, Ярославская область, Россия

### КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: АННОТАЦИЯ

пастеризация, тепловая обработка, сывороточные белки, турбидиметрические методы

Методы быстрой оценки интенсивности тепловой обработки молока необходимы как в промышленности, так и в исследовательской работе. В связи с этим существует множество способов измерений данного показателя, основанных на различных физических принципах, в том числе турбидиметрические методы. Однако данный метод имеет недостаток: для выполнения анализа требуется длительное время. В связи с этим в работе поставлена цель разработать на базе этого принципа измерений экспресс-метод определения растворимых сывороточных белков, характеризующих тепловой класс молока. Результат достигается за счет применения турбидиметрического метода определения с оптимизированными параметрами подготовки пробы и измерения оптической плотности суспензии белковых агрегатов. Метод реализуется следующим образом. Образец молока смешивается с 0,1 N ацетатным буфером (pH 4,6) в соотношении, позволяющем получить концентрацию растворимых сывороточных белков молока от 0,05% до 0,1%. Рекомендованные коэффициенты разведения: 1:3 для образцов ультрапастеризованного молока и пастеризованного молока с высокой интенсивностью термообработки; 1:7 для образцов пастеризованного молока с низкой интенсивностью термообработки и 1:14 для образцов сырого молока. Раствор фильтруют на мембранном фильтре с размером пор 0,45 мкм. Полученный фильтрат смешивают с 24% ТХУ в соотношении 1:1 для коагуляции растворимых сывороточных белков и формирования белковых агрегатов. После выдерживания в течение 5–10 мин оптическую плотность суспензии белковых агрегатов измеряют при длине волны 650 нм. Содержание водорастворимых сывороточных белков в образце может быть рассчитано по калибровочной зависимости. Разработанный метод позволяет получить результат измерений за меньшее время, чем турбидиметрический метод Harland & Ashworth.

Received 07.02.2024

Accepted in revised 22.03.2024

Accepted for publication 26.03.2024

© Myagkonosov D. S., Topnikova E. V., Abramov D. V., Kashnikova O. G., 2024

Available online at <https://www.fsjour.com/jour>

Original scientific article

Open access

## USE OF TURBIDIMETRY FOR DETERMINATION OF HEAT TREATMENT INTENSITY APPLIED AT PASTEURIZATION OF MILK

Dmitry S. Myagkonosov, Elena V. Topnikova, Dmitry V. Abramov, Olga G. Kashnikova

All-Russian Scientific Research Institute of Butter and Cheesemaking — Uglich, Yaroslavl Region, Russia

### KEY WORDS:

pasteurization, heat treatment, whey proteins, turbidimetric methods

### ABSTRACT

Express methods for estimating the intensity of heat treatment of milk are necessary in industry and in research work. For this reason, there are many ways to measure this parameter, which are based on different physical principles, including turbidimetric methods. The Harland & Ashworth turbidimetric method has been developed for a long time, however, due to its high reliability and ease of implementation, it is still used in practice. However, this method has a drawback: it takes a long time to perform the analysis. In this regard, the aim of the work is to develop an express method for evaluating the thermal class of milk based on the principle of measuring the concentration of soluble whey proteins. The result is achieved through the use of a turbidimetric measurement method with optimized sample preparation parameters and parameters for measuring the optical density of a suspension of protein aggregates. The method is implemented as follows. The milk sample is mixed with 0.1 N acetate buffer (pH 4.6) in a ratio that allows to obtain a concentration of soluble milk whey proteins from 0.05% to 0.1%. Recommended dilution coefficients: 1:3 for samples of ultra-pasteurized milk and pasteurized milk with high heat treatment intensity; 1:7 for samples of pasteurized milk with low heat treatment intensity and 1:14 for raw milk samples. The solution is filtered on a membrane filter with a pore size of 0.45 microns. The resulting filtrate is mixed with 24% trichloroacetic acid (TCA) in a 1:1 ratio to coagulate soluble whey proteins and form protein aggregates. After holding for 5–10 minutes, the optical density of the suspension of protein aggregates is measured at a wavelength of 650 nm. The content of water-soluble whey proteins in the sample can be calculated according to the calibration curve. The developed method allows to obtain the measurement result in less time than the Harland & Ashworth turbidimetric method.

### 1. Введение

Процесс производства любой молочной продукции предусматривает обязательный этап термической обработки (пастеризации). Целью термообработки молока является уничтожение патогенной и технически вредной микрофлоры, а также придание молоку требуемых технологических и органолептических свойств [1].

При изготовлении различных молочных продуктов условия термической обработки дифференцированы. Так, при производстве сыров важно, чтобы применяемая термическая обработка не оказывала существенного негативного влияния на динамику свертывания молока молокозвертывающим ферментом. В случае пастеризации

молока при высокой температуре и (или) большой продолжительности наблюдается значительная денатурация сывороточных белков. Денатурированный бета-глобулин формирует агрегаты с каппа-казеином, содержащимся на поверхности казеиновых мицелл, и защищает их от действия молокозвертывающего фермента. Также часть растворимого фосфата кальция утрачивает растворимость, что затрудняет процесс агрегирования мицелл казеина, являющийся начальной стадией формирования молочного сгустка. В результате увеличивается продолжительность свертывания молока, а получаемый сгусток обладает низкой механической прочностью и плохой способностью к синерезису. Следствием низкой механической

ДЛЯ ЦИТИРОВАНИЯ: Мягконос Д. С., Топникова Е. В., Абрамов Д. В., Кашникова О. Г. (2024). Использование турбидиметрии для оценки тепловой нагрузки при пастеризации молока. *Пищевые системы*, 7(1), 105–113. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2024-7-1-105-113>

FOR CITATION: Myagkonosov, D. S., Topnikova, E. V., Abramov, D. V., Kashnikova, O. G. (2024). Use of turbidimetry for determination of heat treatment intensity applied at pasteurization of milk. *Food Systems*, 7(1), 105–113. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2024-7-1-105-113>

прочности является дробление сгустка при обработке с потерей сухих веществ сгустка в сыворотку, ведущее к снижению выхода сыра. Другим негативным следствием плохого синерезиса является медленное отделение влаги от сгустка при его обработке, что приводит к увеличению длительности обработки сырного сгустка и к получению сыра с высоким содержанием влаги [2].

Температурная обработка молока с высокой интенсивностью целенаправленно используется в производстве отдельных видов продуктов для придания им требуемых физических и технологических свойств. Высокая температура обработки вызывает формирование комплексов сывороточных белков с казеинами (между бета-лактоглобулином и каппа-казеином), что используется в промышленности:

- при производстве йогурта, в целях придания продукту большей вязкости [3];
- при производстве мягких сыров и творога в целях повышения выхода продукта для придания продукту более нежной и стабильной консистенции [4].

Оборудование для термической обработки молока снабжено датчиками, контролирующими температуру и продолжительность нагрева. Однако для объективного контроля работы оборудования эффективность тепловой обработки следует оценивать непосредственно на обработанном молоке. Кроме решения этой задачи, приложениями, требующими определения интенсивности термической обработки, являются:

- идентификация и разделение пастеризованного молока и ультрапастеризованного молока. Поскольку при интенсивной тепловой обработке молоко теряет часть полезных веществ (витамины, растворимый кальций и ряд других), важно, чтобы потребитель имел точную информацию о свойствах приобретаемого продукта [5];
- установление наличия примеси в питьевом молоке пастеризованного молока (не проданного в течение срока годности и возвращенного из торговли) [6].
- определение теплового класса сухого молока, что необходимо для уточнения цели его использования. Для производства сыра и творога нужно молоко «низкого» теплового класса, для производства йогуртов, мороженого — молоко «среднего» теплового класса, а для производства выпечки и кондитерских изделий необходимо молоко «высокого» теплового класса [7,8].

Методы контроля тепловой нагрузки основываются на определении содержания в молоке чувствительных к температуре компонентов: ферментов, витаминов, белков, а также выявлении содержания химических веществ, образующихся под действием температуры, например, продуктов реакции Майяра [9].

Существенным преимуществом методов оценки тепловой нагрузки, основанных на оценке содержания термолабильных сывороточных белков, является возможность выбора из множества способов измерений, наиболее соответствующего выдвигаемым требованиям к точности, стоимости и длительности выполнения анализа. Для определения содержания белка в молочной сыворотке традиционно используется метод Кьельдаля. Данный метод имеет высокую точность, а результат определения белка не зависит от содержания в молоке жира и иных веществ [10]. При этом метод имеет достаточно высокую трудоемкость, длительное время выполнения анализа и требует использования дорогостоящего оборудования. Для быстрого выявления количества водорастворимых белков в молочной сыворотке могут быть использованы методы, базирующиеся на других физических принципах, такие как:

- спектрофотометрические методы, основанные на способности белков поглощать излучение в ультрафиолетовом [11] и инфракрасном диапазоне [12,13];
- колориметрические методы, реализуемые с применением специфических красителей, образующих окрашенные комплексы с реакционно-способными группами белков [14,15];
- методы иммуноферментного анализа (ИФА), основанные на реакции специфических антител с белками сыворотки [16].

Рассмотренные ускоренные методы имеют различные недостатки. Так, спектрофотометры, работающие в инфракрасном диапазоне, имеют весьма высокую стоимость. Оборудование для измерения колориметрическими методами и методом ИФА имеет меньшую стоимость, но данные методы требуют длительного времени на проведение анализа (до 1 ч), вследствие чего не могут считаться экспресс-методами. К тому же, колориметрические методы чувствительны к наличию в измеряемом образце продуктов реакции Майяра, в результате чего метод Лоури и ВСА-метод (bichinonic acid protein assay) дают завышенные результаты по содержанию белка в термически обработанном молоке [17].

К числу методов прямого определения концентрации растворимых сывороточных белков, не требующих предварительного фракционирования, относятся турбидиметрические методы, в основе которых лежит измерение оптической плотности суспензии коагулированных белков, которая пропорциональна концентрации только белков, но не других компонентов сыворотки. В частности, в турбидиметрическом методе определение индекса водорастворимых сывороточных белков (whey protein nitrogen index — WPNI) [18] (далее — в метод Harland & Ashworth) осуществляется с помощью осаждения казеинов и нерастворимых сывороточных белков в молоке путем его насыщения NaCl, фильтрации с получением экстракта, содержащего водорастворимые белки сыворотки, коагуляции сывороточных белков в полученном экстракте с помощью кислоты при установлении уровня 2,7–3,1 ед. pH. При таком значении pH наступает денатурация всех растворимых белков сыворотки с формированием суспензии, оптическая плотность которой пропорциональна концентрации растворимых белков. Измеренную оптическую плотность пересчитывают в концентрацию белка с помощью калибровочной зависимости. Несмотря на то, что метод Harland & Ashworth был разработан очень давно, данный метод после ряда модификаций, предложенных в более поздних исследованиях [19], используется и в настоящее время как в научных исследованиях [20], так и в промышленности [21].

Турбидиметрический метод оценки содержания сывороточных белков, хотя и обладает меньшей точностью в сравнении с другими вышеперечисленными методами, не требует использования сложного оборудования и позволяет получить результат измерений за короткое время. Недостатками турбидиметрического метода Harland & Ashworth и его модификаций является достаточно большая длительность подготовки образца к измерению (фактически, не менее 45 мин). Целью настоящего исследования является разработка экспресс-метода для определения содержания характеризующих тепловой класс молока растворимых сывороточных белков, основанного на турбидиметрическом принципе, позволяющем получить результат измерений за меньшее время, чем метод Harland & Ashworth.

## 2. Материалы и методы

### 2.1. Материалы

В работе были использованы образцы сырого молока (5 образцов от 4 разных производителей), а также приобретенные в розничной торговле образцы пастеризованного молока (5 образцов от 5 разных производителей) и ультрапастеризованного молока (5 образцов от 5 разных производителей). При обосновании метода подготовки пробы дополнительно применяли молоко, восстановленное из сухого молока в соответствии с ГОСТ 29245–91<sup>1</sup>.

### 2.2. Методы

#### 2.2.1. Методы исследования фракции сывороточных белков молока

Массовую долю азота сывороточных белков определяли расчетным методом как разность между массовой долей азота безказеиновой фракции и небелкового азота молока.

Массовую долю азота безказеиновой фракции молока, получаемую после осаждения казеиновой фракции белка и фракции нерастворимых сывороточных белков раствором уксусной кислоты с последующим центрифугированием и фильтрацией, определяли по ГОСТ 34536–2019<sup>2</sup>.

Массовую долю небелкового азота молока, получаемую после удаления фракции белкового азота в пробе трихлоруксусной кислотой, измеряли по ГОСТ Р 55246–2012<sup>3</sup>.

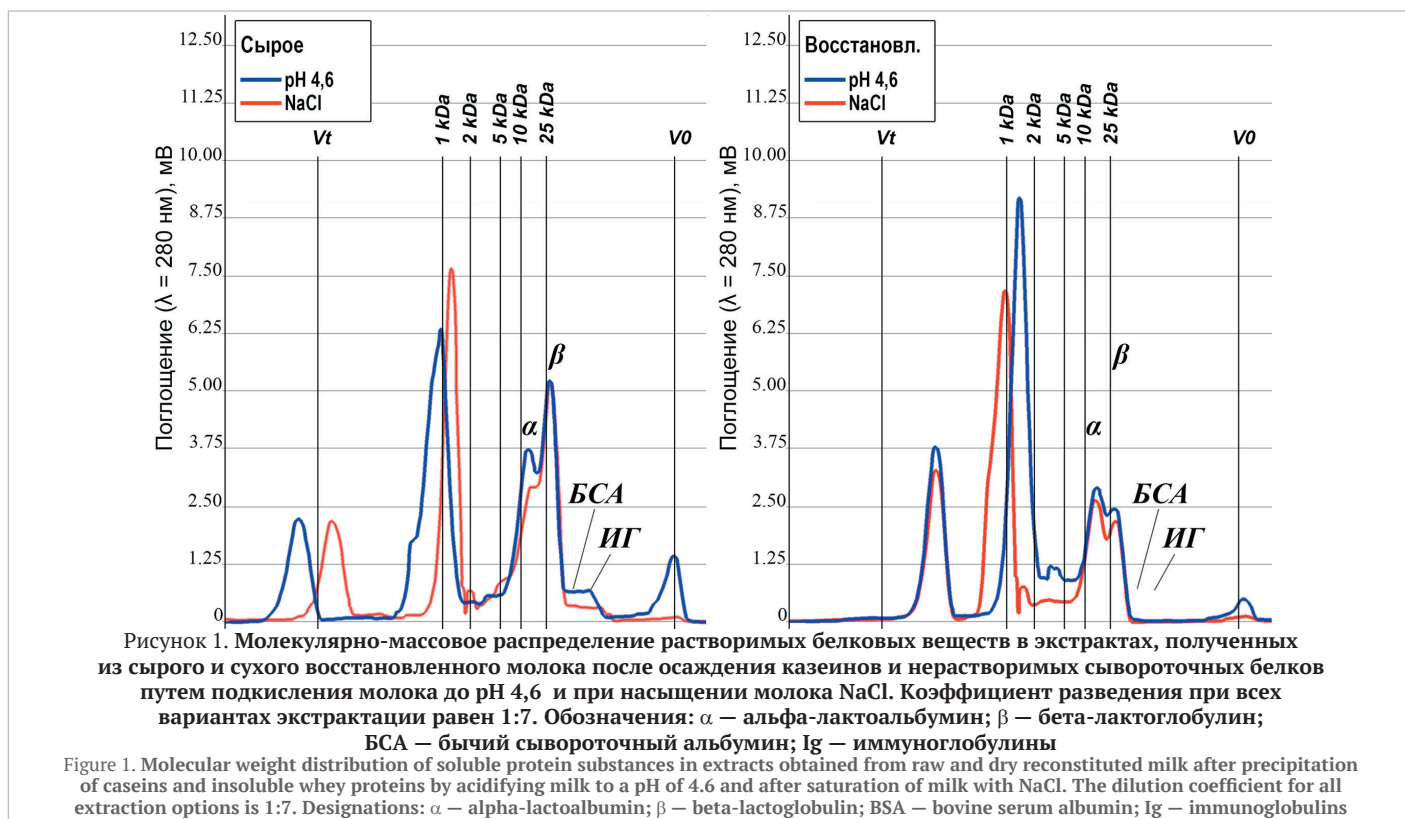
Оптическую плотность образцов измеряли в кювете из кварцевого стекла с длиной оптического пути 10 мм на спектрофотометре РВ2201 (ЗАО «Спектроскопия, оптика и лазеры — авангардные разработки», Республика Беларусь).

Определение молекулярно-массового распределения растворимых белковых веществ в сыворотке проводили методом гель-фильтрации высокого разрешения с использованием хроматографической системы АКТА Pure 25 (Cytiva, Швеция), оборудованной колонкой Superose 12 10/300 GL (GE Healthcare, Швеция). Элюент — водный раствор 0,05 М Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> + 0,15 М NaCl (pH 6,50), скорость подачи элю-

<sup>1</sup> ГОСТ 29245–91 Консервы молочные. Методы определения физических и органолептических показателей М.: Стандартинформ, 2009. — 5 с.

<sup>2</sup> ГОСТ 34536–2019 Молоко и молочная продукция. Определение массовой доли сывороточных белков методом Кьельдаля. М.: Стандартинформ, 2019. — 8 с.

<sup>3</sup> ГОСТ Р 55246–2012 Молоко и молочные продукты. Определение содержания небелкового азота с применением метода Кьельдаля. М.: Стандартинформ, 2019. — 10 с.



ента – 0,5 мл/мин; длина волны детектора – 280 нм. Калибровку колонки проводили по времени выхода белковых веществ с известной молекулярной массой: IgG (180 кДа), альдолаза (158 кДа), BSA (69 кДа), овальбумин (43 кДа), β-Lg (36,0 кДа), α-La (14,4 кДа), цитохром С (12,3 кДа), триптофан (0,204 кДа). Калибровочный график был построен на основе логарифмической регрессионной модели [22]. Экстракты, содержащие сывороточные белки, получали подкислением молока до  $4,60 \pm 0,05$  ед. рН с помощью 10%-го раствора уксусной кислоты на магнитной мешалке под рН-метром. Подкисленные образцы пропускали через фильтр из фильтровальной бумаги «тип 102» (стандарт КНР GB/T 1914–2007<sup>4</sup>), а затем через фильтр из нейлона с размером пор 0,45 мкм (Tianjin Jinteng Experiment Equipment Co., Ltd, КНР). Активную кислотность молока и сыворотки определяли на рН-метре рН-150МИ (ООО «Измерительная техника», Россия), оснащенный комбинированным рН-электродом FC200В (Hanna Instruments Inc., США).

Измерение содержания растворимых белков сыворотки турбидиметрическим методом Harland & Ashworth проводили по прописи фирмы GEA [21].

### 2.2.2. Микроскопические исследования

Микроскопические исследования суспензий сывороточных белков проводили на микропрепаратах «раздавленная капля» методом световой микроскопии в проходящем свете с применением конденсора темного поля. Фотоснимки были сделаны с помощью цифровой фотокамеры Canon EOS600D. Коррекцию фотографий производили с использованием программного пакета Digital Photo Professional software v. 4.5 (Canon Inc., Япония).

### 2.2.3. Методы статистического анализа

Математическая обработка данных осуществлялась с применением программного пакета Statsoft Statistica (v. 5.5). Оценку влияния факторов эксперимента на переменные отклика проводили методом двухфакторного дисперсионного анализа, со сравнением достоверности отличий между уровнями переменной отклика методом парных сравнений Тьюки [23].

## 3. Результаты и обсуждение

### 3.1. Обоснование метода подготовки пробы

Экспресс-метод измерений должен обеспечивать быстрое получение результата, а также быть малозатратным по расходу реактивов и иметь малую трудоемкость в исполнении, включая затраты труда на подготовку реактивов и мытье лабораторной посуды. Сократить

продолжительность и трудоемкость анализа можно за счет усовершенствования метода подготовки пробы.

Большая продолжительность времени выполнения анализа по методу Harland & Ashworth связана с длительной процедурой осаждения казеинов и нерастворимых сывороточных белков с помощью насыщения молока NaCl, а также с длительной последующей фильтрацией на фильтре из плотной бумаги. Другим недостатком данного метода является неполное извлечение растворимых сывороточных белков из молока. При осаждении казеинов и нерастворимых сывороточных белков по методу Harland & Ashworth с помощью насыщения молока NaCl получают экстракт, содержащий меньшее количество растворимых сывороточных белков, чем при использовании метода осаждения с помощью внесения кислоты (при pH 4,6) [24]. Это подтверждается результатами хроматографических исследований. Хроматограммы, показывающие содержание растворимых белковых веществ в сыворотке при разных методах экстракции, приведены на Рисунке 1.

В целях повышения эффективности экстракции из молока белков сыворотки и для сокращения времени и трудозатрат при подготовке пробы, был выбран метод, основанный на осаждении казеинов и денатурированных сывороточных белков при pH 4,6, описанный в работе Guan и др. [25]. Согласно указанному методу, молоко смешивается с 0,1 N ацетатным буфером, имеющим pH 4,6 в соотношении 1:7, центрифугируется и фильтруется на фильтре из полимерных материалов с размером пор 0,45 мкм.

Мембранные методы фильтрации при подготовке пробы в настоящее время получили широкое распространение в лабораторной практике. Для мембранной фильтрации может использоваться как вакуумная фильтрация, так и фильтрация под давлением, реализуемая на т. н. «шприц-фильтрах» (Рисунок 2). Последний вариант более удобен, т. к. не требует использования дополнительного оборудования (картриджа для фильтра и вакуумного насоса) и последующей мойки картриджа.

Фильтрация на мембранных фильтрах занимает существенно меньше времени, чем фильтрация на бумажных фильтрах, используемая в методе Harland & Ashworth. В методе Harland & Ashworth при осаждении белков молока насыщением NaCl требуется поддержание температуры 37 °С, что достигается выдерживаем образца в жидком термостате. При экстракции растворимых сывороточных белков с помощью ацетатного буфера отсутствует необходимость в нагревании образца (осаждение происходит при комнатной температуре), что упрощает процесс экстракции.

Осаждение в ацетатном буфере в разведении 1:7 дает возможность использования фильтрации на мембранных фильтрах после кратковременного отстаивания образца (~ 5 мин) без необходимости центрифугирования. Для ускорения фильтрации целесообразно

<sup>4</sup> GB/T 1914–2007. Chemical analytical filter paper. National Standards of People's Republic of China.

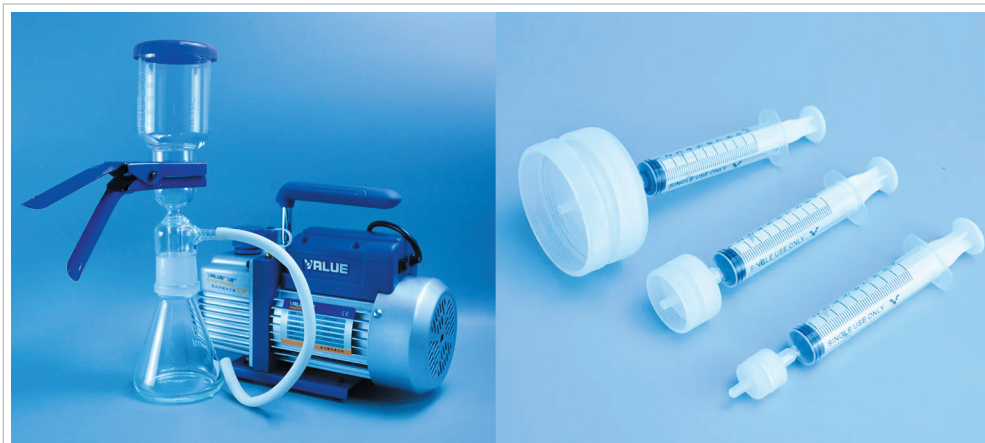


Рисунок 2. Оборудование для фильтрации на полимерных мембранах: слева — фильтрация под действием вакуума; справа — фильтрация под давлением («шприц-фильтр») (Figure 2. Filtration equipment on polymer membranes: on the left — vacuum filtration; on the right — pressure filtration (“syringe filter”))

использовать мембранные фильтры с увеличенной площадью поверхности (диаметром 47 мм), что позволяет фильтровать образцы, содержащие большое количество нерастворимых частиц.

### 3.2. Обоснование режима получения суспензии коагулированных белков

Экстракт, полученный из молока с помощью осаждения ацетатным буфером (рН 4,6), содержит сывороточные белки в растворимой форме. Для проведения измерения турбидиметрическим методом требуется провести дестабилизацию растворимых сывороточных белков с формированием суспензии из агрегатов коагулированных белков. При этом требуется подобрать режимы коагуляции, при которых оптическая плотность суспензии белков будет пропорциональна их концентрации в исследуемом образце. С этой целью авторами предлагается провести дестабилизацию растворимых белков в экстракте под действием трихлоруксусной кислоты (ТХУ).

Коагулирующее действие ТХУ не связано с изменением рН среды, при котором достигается изоэлектрическая точка белка. Под действием ТХУ происходят структурные изменения молекулы белка, при которых их вторичная структура утрачивается только частично. В этом состоянии молекулы белков в большей степени способны к связыванию с другими молекулами белков, чем в нативном состоянии или в состоянии с полностью утраченной вторичной структурой. Связывание белков при этом происходит через силы гидрофобного взаимодействия. Низкая концентрация ТХУ (3% и менее) вызывает частичное разрывание вторичной структуры белка. В таком состоянии молекулы белков формируют агрегаты только после длительной выдержки (часы, сутки). Повышение концентрации ТХУ выше определенной концентрации (индивидуальной для каждого белка) вызывает моментальную преципитацию молекул белка [26,27]. В присутствии 12% ТХУ происходит полная коагуляция всех белков молока. На этом принципе основано определение содержания небелкового азота в молоке, при котором с целью получения безбелкового экстракта используют осаждение белков в 12% растворе ТХУ [28].

Основной проблемой, которую необходимо решить исследователю для создания турбидиметрического метода, дающего надежный результат измерений, является установление условий формирования суспензии нерастворимых белков, оптическая плотность которой будет пропорциональна содержанию белка в образце [29]. Для уточнения процедуры формирования суспензии нерастворимых белков были проведены исследования по адаптации режимов экстракции сывороточных белков применительно к разрабатываемому турбидиметрическому методу. Согласно методу Guan и др. [25], применяется разведение молока ацетатным буфером в соотношении 1:7. Для установления оптимальной кратности разведения, проводили исследования на экстрактах сывороточных белков, полученных из сырого молока при разведениях 1:7, 1:14 и 1:28 в 0,1 N ацетатном буфере, имеющем рН 4,6. Содержание в полученных экстрактах растворимых сывороточных белков составляло  $0,100 \pm 0,013\%$ ,  $0,051 \pm 0,006\%$  и  $0,026 \pm 0,003\%$  соответственно (данные приведены в формате «среднее  $\pm$  СКО»). Для дестабилизации растворимых белков в целях формирования оптически непрозрачной суспензии экстракты смешивались 1:1 по объему с раствором ТХУ концентрации 24% для достижения содержания ТХУ в смеси, равной 12%. После внесения ТХУ образцы выдерживались при комнатной температуре с периодическим перемешиванием. Динамику изменения оптической плотности белковой суспензии во времени в образцах измеряли при длине волны 650 нм. Эксперимент проводили в пяти повтор-

ностях: 5 образцов молока в 3 разведениях. Оценка степени влияния факторов «Коэффициент разведения» и «Время после внесения ТХУ» на оптическую плотность белковой суспензии в образцах, выполненная методом дисперсионного анализа, представлена в Таблице 1.

Таблица 1. Результаты дисперсионного анализа влияния факторов «Коэффициент разведения» и «Время после внесения ТХУ» на переменную отклика «Оптическая плотность белковой суспензии»

Table 1. The results of the dispersion analysis of the influence of the factors “Dilution coefficient” and “Time after application of TCA” on the response variable “Optical density of the protein suspension”

Фактор	df	SS	MS	F	p
Time	5	0,44325	0,08865	34,02	< 0,000001
Kd	2	0,22167	0,11084	42,54	< 0,000001
Time * Kd	10	0,04539	0,00454	1,74	0,087664
Error	72	0,18759	0,00261		

Примечание: *df* — количество степеней свободы; *SS* — сумма квадратов вариации; *MS* — средняя сумма квадратов; *F* — статистика Фишера; *p* — уровень значимости.

Обозначения факторов: *Kd* — коэффициент разведения в ацетатном буфере (1:7, 1:14 или 1:28); *Time* — время после внесения ТХУ, мин; *Error* — доля вариации переменной отклика, отнесенная к ошибке.

Из результатов дисперсионного анализа, приведенных в Таблице 1, следует, что фактор «Время после внесения ТХУ» оказывает статистически достоверное влияние ( $p < 0,001$ ) на величину оптической плотности суспензии. Фактор «Коэффициент разведения» также оказывает статистически достоверное влияние ( $p < 0,001$ ) на величину оптической плотности суспензии. Динамика изменения оптической плотности суспензий сывороточных белков, полученных из экстрактов в ацетатном буфере с разной степенью разведения, приведена на Рисунке 3.

Данные по динамике изменения оптической плотности суспензии сывороточных белков, коагулированных в 12% ТХУ (Рисунок 3), показывают, что скорость нарастания и конечное достигаемое значение оптической плотности зависит от разведения (т. е. от концентрации белка), а также от продолжительности формирования белковых агрегатов. Начиная с седьмой минуты после начала формирования суспензии оптическая плотность суспензий в разведениях 1:14 и 1:7 не отличается между собой (критерий Тьюки,  $p < 0,05$ ), но отличается от оптической плотности в разведении 1:28 (критерий Тьюки,  $p < 0,05$ ). При разведениях 1:7 и 1:14 (содержание белка  $0,100 \pm 0,013\%$  и  $0,051 \pm 0,006\%$  соответственно) формирование суспензии завершается через 10 мин. При разведении 1:28 (содержание белка  $0,026 \pm 0,003\%$ ) возрастание оптической плотности продолжается и после 10 мин выдержки после внесения ТХУ.

Полученные зависимости оптической плотности суспензии коагулированных белков от коэффициента разведения и от продолжительности реакции объясняются отличиями в скорости роста белковых агрегатов и в их конечных размерах, наблюдаемых в растворах с разной концентрацией белка. На Рисунке 4 приведены фото микропрепаратов суспензии коагулированных белков в разное время после внесения ТХУ.

На основании результатов изучения микропрепаратов белковых суспензий, приведенных на Рисунке 4, можно сделать следующие выводы. При высокой концентрации белка ( $0,100 \pm 0,013\%$  при разведении 1:7 и  $0,051 \pm 0,006\%$  при разведении 1:14) коагулированные частицы белка формируют малое количество агрегатов с большой площадью поверхности. При низкой концентрации белка

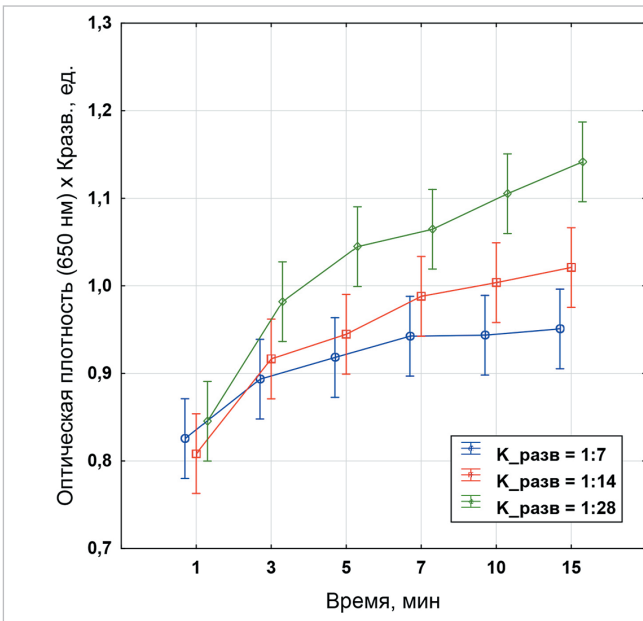


Рисунок 3. Изменение оптической плотности суспензии, состоящей из коагулированных в 12% ТХУ сывороточных белков, в зависимости от коэффициента разведения сыворотки. К\_разв — коэффициент разведения в ацетатном буфере. Приведены скорректированные значения оптической плотности, умноженные на коэффициент разведения. Планки разброса показывают границы доверительных интервалов для доверительной вероятности P=0,95 (n = 5)

Figure 3. A change in the optical density of a suspension consisting of whey proteins coagulated in 12% TCA, depending on the serum dilution coefficient. K\_razv is the dilution coefficient in the acetate buffer. The corrected values of the optical density multiplied by the dilution coefficient are given. The scatter bars show the boundaries of the confidence interval with a 95% confidence level (n = 5)

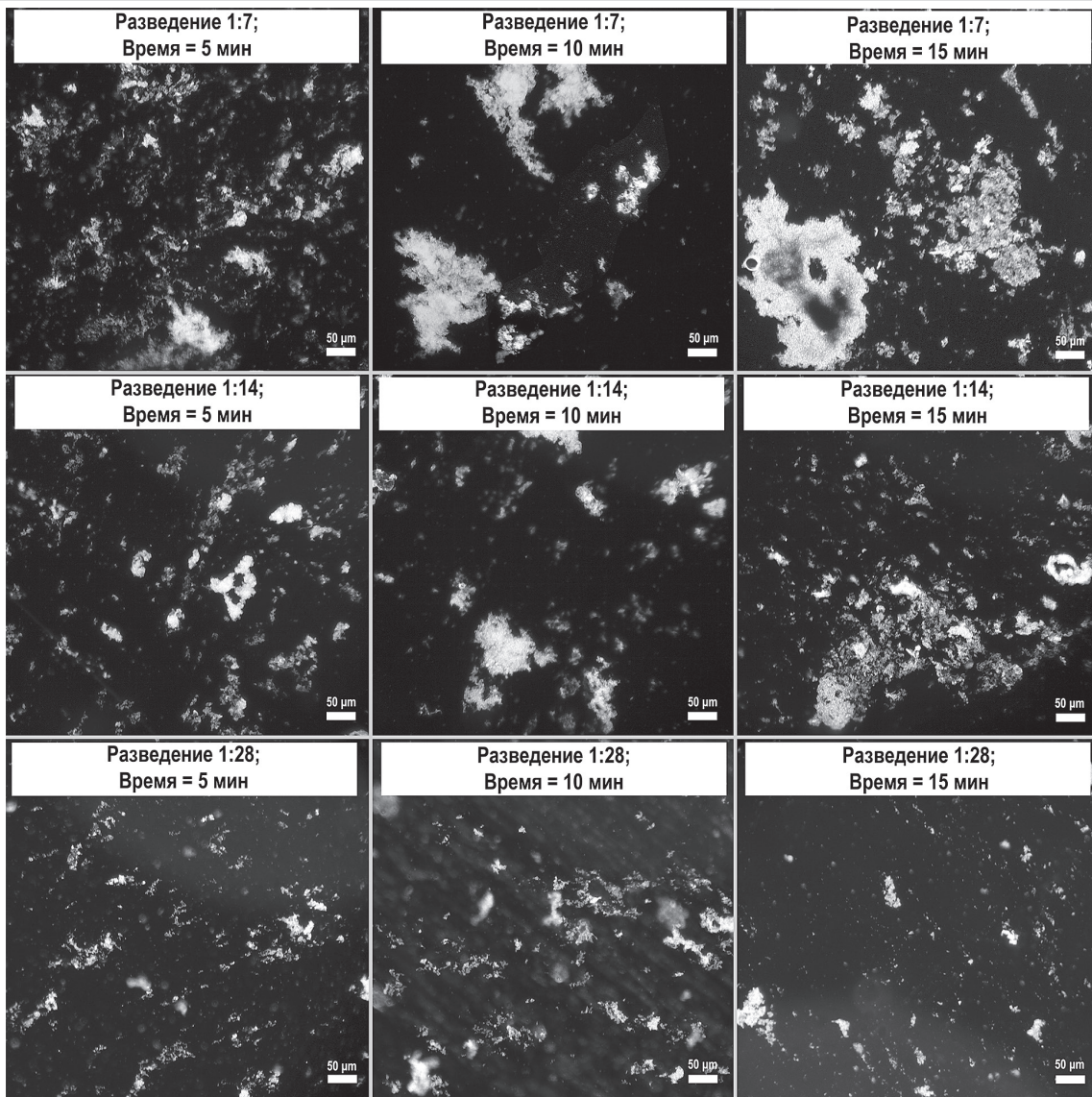


Рисунок 4. Динамика изменения формы агрегатов сывороточных белков, коагулированных в 12% ТХУ, в растворах с разной концентрацией белка. Обозначения: «Разведение» — степень разведения молока в ацетатном буфере; «Время» — время после внесения ТХУ. Длина мерного отрезка равна 50 мкм

Figure 4. Dynamics of changes in the shape of aggregates of whey proteins coagulated in 12% TCA in solutions with different protein concentrations. Designations: "Dilution" — the degree of dilution of milk in an acetate buffer; "Time" — the time after application of TCA. The length of the measuring segment is 50 microns

(0,026±0,003% при разведении 1:28) формируется большое количество агрегатов с малой площадью поверхности. Суспензия, состоящая из большого количества мелких частиц, имеет большую суммарную площадь перекрытия светового потока, и поглощает его сильнее, чем суспензия, состоящая из меньшего количества крупных частиц. Этим можно объяснить тот факт, что после пересчета оптической плотности с учетом коэффициента разведения, в образцах с высокой степенью разведения, которые состоят из мелких частиц, получается большее значение оптической плотности, чем в образцах с меньшей степенью разведения, которые состоят из более крупных частиц (см. Рисунок 3).

Полученные результаты согласуются с литературными данными. Согласно классической теории светорассеяния, оптическая плотность суспензии пропорциональна концентрации частиц суспензии. Процесс формирования суспензии делится на несколько фаз. В начальной фазе (лаг-фаза) начинается объединение молекул в агрегаты, но размеры агрегатов столь малы, что изменения оптической плотности не происходит. Далее в фазе роста происходит увеличение размеров агрегатов, сопровождающееся увеличением оптической плотности. Завершающей является фаза «плато», когда белковые молекулы практически полностью переходят в состав агрегатов, оптическая плотность суспензии достигает максимума и далее не повышается. Максимальная достигаемая величина оптической плотности зависит от количества и морфологии агрегатов [30]. При значительном изменении концентрации белка в среде изменяется динамика флокуляции и морфология агрегатов [31,32]. При низком содержании белка динамика флокуляции замедляется, момент достижения максимальной оптической плотности суспензии переносится на более позднее время, размеры агрегатов уменьшаются [33,34].

В разрабатываемом турбидиметрическом методе измерения концентрации растворимых сывороточных белков в молоке пропорциональность между концентрацией белка и оптической плотностью белков суспензии денатурированных белков может быть достигнута за счет формирования белковых агрегатов с единообразной морфологией и путем полного включения денатурированных белковых молекул в состав этих агрегатов. Оба условия могут быть выполнены при условии достижения оптимальной концентрации сывороточных белков в экстракте.

Степень перехода денатурированных белковых молекул в состав агрегатов можно оценить по динамике изменения оптической плотности суспензии сывороточных белков, осажденных в 12% ТХУ. Завершение процесса означает полное включение денатурированных белковых молекул в состав агрегатов. При использовании разведений, эквивалентных разведениям от 1:7 до 1:14 сырого молока в ацетатном буфере, процесс нарастания оптической плотности завершается через 10 мин (Рисунок 3). Содержание белка при разведениях молока от 1:7 до 1:14 составляет от 0,05 до 0,1%. Данный диапазон концентраций белков следует считать оптимальным. С учетом того, что при концентрации белка 0,1% происходит формирование крупных хлопьев, быстро выпадающих в осадок, следует использовать разведения, дающие концентрации белка менее 0,1%, но не ниже 0,05%.

Еще одним аргументом в пользу выбора концентрации белка в указанном диапазоне является необходимость обеспечить продолжительность анализа, выполняемого с помощью разрабатываемого турбидиметрического метода, не превышающую продолжительность анализа существующими методами. Продолжительность выдержки для формирования суспензии из коагулированных белков при использовании турбидиметрического метода Harland & Ashworth и его модификаций [21,29] составляет 5–10 мин. Поэтому для обеспечения продолжительности выдержки после внесения ТХУ не более 10 мин следует применять разведения, позволяющие получить концентрацию растворимого белка в экстракте от 0,05 до 0,1% (Рисунок 3).

Образцы термически обработанного молока содержат меньшее количество растворимых сывороточных белков, чем сырое молоко. Также, концентрация растворимых сывороточных белков в молоке зависит от интенсивности тепловой обработки. На Рисунок 5 показано молекулярно-массовое распределение белковых веществ в сывороточной фазе типичных образцов молока с разной интенсивностью тепловой обработки.

Как следует из данных, приведенных на Рисунке 5, содержание растворимых сывороточных белков в образцах молока с разной интенсивностью термической обработки существенно отличается. Для достижения одинакового содержания белка в разведении, при котором достигается одинаковая динамика формирования оптической плотности в суспензии коагулированных сывороточных белков и одинаковая морфология белковых агрегатов, следует применять разные коэффициенты разведений для образцов молока с разной интенсивностью пастеризации.

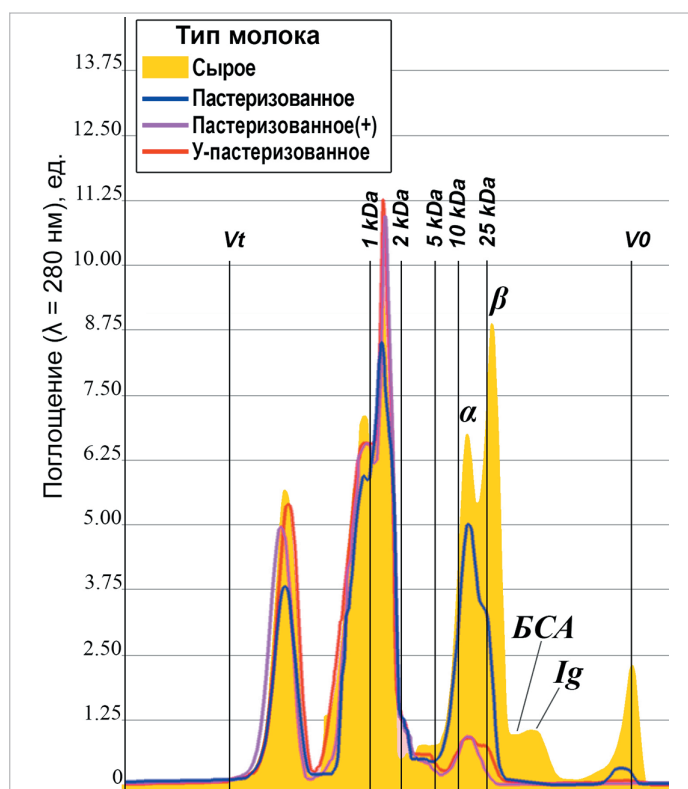


Рисунок 5. Молекулярно-массовое распределение фракции сывороточных белков в образцах молока с разной интенсивностью пастеризации. Обозначения: «Сырое» — сырое молоко, не подвергнутое термической обработке; «Пастеризованное» — пастеризованное молоко с низкой интенсивностью термообработки; «Пастеризованное (+)» — пастеризованное молоко с высокой интенсивностью термообработки; «У-пастеризованное» — ультрапастеризованное молоко;  $\alpha$  — альфа-лактоальбумин;  $\beta$  — бета-лактоглобулин; BSA — бычий сывороточный альбумин; Ig — иммуноглобулины

Figure 5. Molecular weight distribution of the whey protein fraction in milk samples with different pasteurization intensity. Designations: "Raw" — raw milk, not subjected to heat treatment; "Pasteurized" — pasteurized milk with low intensity of heat treatment; "Pasteurized (+)" — pasteurized milk with high intensity of heat treatment; "U-pasteurized" — ultra-pasteurized milk.  $\alpha$  — alpha-lactalbumin;  $\beta$  — beta-lactoglobulin; BSA — bovine serum albumin; Ig — immunoglobulins

Подобный подход был использован Kuramoto и др. [29], которые в результате работы по повышению воспроизводимости турбидиметрического метода Harland & Ashworth установили, что в зависимости от концентрации белка в образце, в результате коагуляции происходило формирование суспензий с разной структурой. В области высоких концентраций белка наблюдалось формирование крупных хлопьев, быстро выпадающих в осадок, что не позволяло получить стабильную суспензию, сохраняющую свою структуру во время проведения измерений. В области низких концентраций белка изменение концентрации белка практически не приводило к изменению оптической плотности суспензии. Для получения суспензии сывороточных белков, отвечающей требованиям стабильности и линейной зависимости оптической плотности от концентрации, Kuramoto и др. [29] адаптировали разведения образцов в зависимости от содержания в них белка. Для повышения чувствительности метода, было рекомендовано проводить растворение экстрактов сывороточных белков по объему, раствором NaCl в соотношениях 1 + 20 для молока низкого температурного класса и 2 + 10 для молока высокого температурного класса.

Исходя из этого, на следующем этапе исследований был проведен подбор коэффициента разведения ацетатным буфером для образцов молока с разной интенсивностью температурной обработки (сырое, пастеризованное и ультрапастеризованное) с учетом фактического содержания водорастворимых сывороточных белков в образце.

Содержание водорастворимых сывороточных белков в исследованных образцах молока разного типа, с разной интенсивностью термической обработки, а также значения коэффициента разведения, необходимого для получения концентрации белка в образцах на уровне ~ 0,05%, приведены в Таблице 2.



Таблица 2. Содержание растворимого сывороточного белка в образцах молока с разной интенсивностью термической обработки и при различных разведениях

Table 2. The content of soluble whey protein in milk samples with different intensity of heat treatment and dilutions

Тип молока	Содержание белка (без разведения), %	Коэффициент разведения	Концентрация белка при разведении, %
Сырое (n = 5)	0,64±0,08	1:14	0,05±0,01
Пастеризованное (n = 3)	0,37±0,03	1:7	0,05±0,004
Ультрапастеризованное (n = 7)	0,19±0,04	1:3	0,06±0,01

Примечание: образцы пастеризованного молока с высокой интенсивностью термообработки, имеющие содержание растворимых сывороточных белков менее 0,3%, были исключены из группы «Пастеризованное молоко» и включены в группу «Ультрапастеризованное молоко». n — количество образцов в группе.

Данные приведены в форме «среднее значение ± стандартное отклонение».

Разведение молока в ацетатном буфере с коэффициентом 1:7, согласно методу, описанному Guan et al [25], обеспечивает установление кислотности смеси на уровне 4,6 ед. рН, что гарантирует полное осаждение казеинов и денатурированных сывороточных белков и получение экстракта, содержащего только растворимые сывороточные белки. Такой же эффект достигается и при разведении 1:14. При разведении молока ацетатным буфером в соотношении 1:3 получают кислотность разведения на уровне 4,7±0,04 ед. рН (среднее значение ± стандартное отклонение). Такой уровень рН потенциально может привести к неполному осаждению казеинов и денатурированных сывороточных белков с переходом их в состав экстракта, что может исказить результаты измерения содержания растворимых сывороточных белков турбидиметрическим методом.

Было проведено сравнение эффективности экстракции сывороточных белков при разведениях молока ацетатным буфером в соотношении 1:7 и 1:3. Оценка эффективности экстракции производилась путем сравнения содержания белковых веществ в экстрактах, которое определяли спектрофотометрическим методом, по величине поглощения на длине волны 280 нм [35]. Исследование проводилось на трех образцах термически обработанного молока с разным содержанием растворимых сывороточных белков. Процедура экстракции сывороточных белков из каждого образца молока с оценкой концентрации белковых веществ в экстракте была выполнена в трех повторностях. Оценка влияния факторов «Образец молока» и «Коэффициент разведения» на концентрацию белковых веществ в экстрактах была проведена методом дисперсионного анализа. Результаты дисперсионного анализа представлены в Таблице 3.

Таблица 3. Результаты дисперсионного анализа влияния факторов «Образец молока» и «Коэффициент разведения» на переменную отклика «Концентрация белковых веществ в экстракте»

Table 3. The results of the dispersion analysis of the influence of the factors "Milk sample" and "Dilution coefficient" on the response variable "Protein content in the extract"

Фактор	df	SS	MS	F	p
Milk	2	1,867	0,934	113,9	< 0,000001
Kd	1	0,016	0,016	1,9	0,193955
Milk * Kd	2	0,041	0,020	2,5	0,124678
Error	12	0,098	0,008		

Примечание: df — количество степеней свободы; SS — сумма квадратов вариации; MS — средняя сумма квадратов; F — статистика Фишера; p — уровень значимости.

Обозначения факторов: Milk — образец молока; Kd — коэффициент разведения в ацетатном буфере (1:3 или 1:7).

Error — доля вариации переменной отклика, отнесенная к ошибке.

Результаты дисперсионного анализа, приведенные в Таблице 3, показывают, что имеет место статистически достоверное влияние фактора «Образец молока» (p < 0,001) на концентрацию белковых веществ в экстракте. Отсутствует статистически достоверное влияние фактора «Коэффициент разведения» (p > 0,1) на концентрацию белковых веществ в экстракте. Это означает, что содержание белковых веществ в экстракте зависит только от содержания белка в образце молока, но не зависит от используемого коэффициента разведения молока в ацетатном буфере (1:3 или 1:7). Визуализация результатов дисперсионного анализа представлена на Рисунке 6.

На основании полученных данных, для реализации турбидиметрического метода с осаждением белков в 12% ТХУ при получении

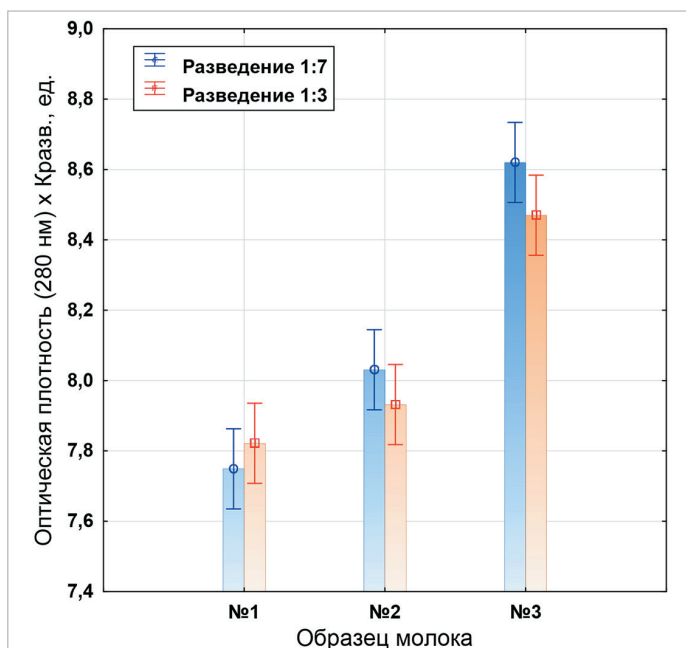


Рисунок 6. Зависимость оптической плотности экстрактов сывороточных белков на длине волны 280 нм, полученных при разной степени разведения молока в ацетатном буфере.

K<sub>разв</sub> — коэффициент разведения в ацетатном буфере.

Приведены скорректированные значения оптической плотности, умноженные на коэффициент разведения.

Плankи разброса показывают границы доверительных интервалов для доверительной вероятности P = 0,95 (n = 3)

Figure 6. Dependence of the optical density of whey protein extracts at a wavelength of 280 nm obtained with different degrees of dilution of milk in an acetate buffer. K<sub>dilution</sub> is the dilution coefficient in the acetate buffer. The corrected values of the optical density multiplied by the dilution coefficient are given. The scatter bars show the boundaries of the confidence interval with a 95% confidence level (n = 3)

экстракта сывороточных белков из молока с помощью ацетатного буфера следует использовать следующие разведения:

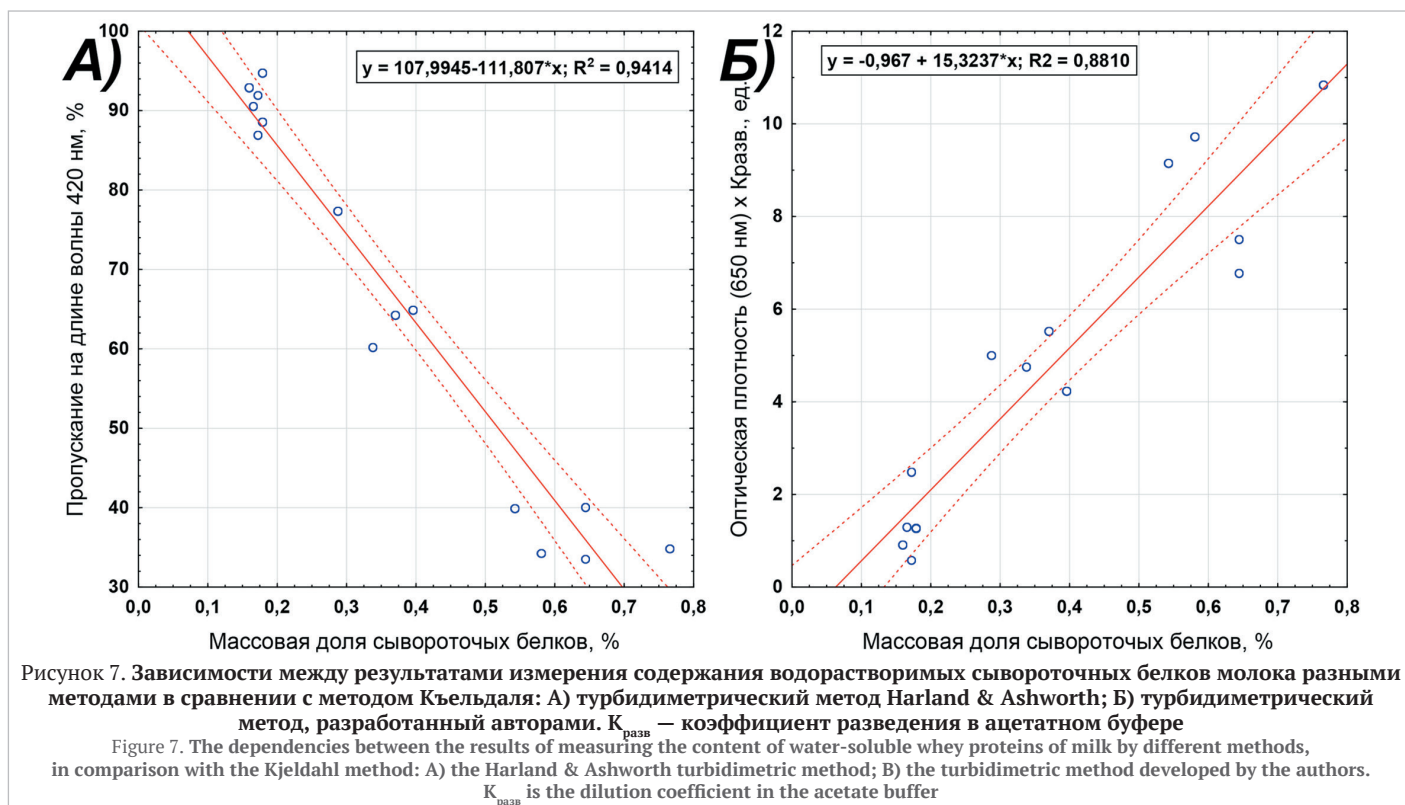
- 1:3 для образцов ультрапастеризованного молока и пастеризованного молока с высокой интенсивностью термообработки, имеющих содержание растворимых сывороточных белков менее 0,3%;
- 1:7 для образцов пастеризованного молока с низкой интенсивностью термообработки, имеющих содержание растворимых сывороточных белков от 0,3% до 0,5%;
- 1:14 для образцов сырого молока, имеющих содержание растворимых сывороточных белков свыше 0,5%.

### 3.3. Исследование молока с разной интенсивностью тепловой обработки разработанным турбидиметрическим методом

Результаты измерения содержания растворимых сывороточных белков в образцах сырого и термически обработанного молока с помощью турбидиметрического метода Harland & Ashworth по прописи GEA [21] и с помощью турбидиметрического метода, предлагаемого авторами, представлены на Рисунке 7.

Из результатов, представленных на Рисунке 7, можно сделать следующие выводы. Предлагаемый авторами вариант реализации турбидиметрического метода имеет несколько большую погрешность в сравнении с турбидиметрическим методом Harland & Ashworth, о чем говорит меньший коэффициент детерминации регрессионной зависимости (R<sup>2</sup> = 0,94 для метода Harland & Ashworth и R<sup>2</sup> = 0,88 для разработанного метода). При этом точности разработанного метода достаточно для использования его в качестве экспресс-метода контроля в молочной промышленности в заявленных целях: определение интенсивности пастеризации питьевого молока и выявление теплового класса сухого молока. Разработанный турбидиметрический метод имеет следующие преимущества в сравнении с описанным выше турбидиметрическим методом Harland & Ashworth:

- более полное извлечение растворимых сывороточных белков из молока;
- малая продолжительность анализа (не более 15 мин);
- отсутствие потерь влаги из образца при фильтрации;
- меньшее количество лабораторной посуды и оборудования.



Недостатком турбидиметрического метода Harland & Ashworth и его модификаций также является необходимость использования дорогостоящих моделей спектрофотометров, имеющих возможность измерения в режиме «пропускание». Для разработанного турбидиметрического метода применяются более бюджетные модели спектрофотометров или фотокориметров, способные измерять оптическую плотность только в режиме поглощения.

#### 4. Заключение

На основании полученных данных можно сделать следующие выводы:

- в молочной промышленности существует необходимость в наличии метода, позволяющего быстро оценить интенсивность тепловой нагрузки в исследуемом образце молока. В этих целях предложено множество методов измерений, основанных на различных физических принципах;
- недостатками предложенных методов являются или длительное время анализа, или высокая стоимость измерительной аппаратуры. Именно по этой причине метод Harland & Ashworth с модификациями до сих пор востребован как в промышленности, так и в научных исследованиях. Его недостатком является большая длительность анализа (до 45 мин).

На основании проведенных исследований авторами предложен вариант турбидиметрического метода измерения концентрации сывороточных белков, в рамках которого для получения из молока экстракта сывороточных белков осуществляется кислотное осаждение (при pH 4,6) казеинов и денатурированных сывороточных белков с последующей фильтрацией на мембранных фильтрах. В ходе данного процесса получают экстракт, содержащий растворимые сывороточные белки, после чего проводится смешивание указанного экстракта с ТХУ с целью получения конечной концентрации равной

12%. Затем формируется суспензия из денатурированных белков, оптическая плотность которой пропорциональна содержанию растворимых сывороточных белков в экстракте.

Главным вопросом, требующим решения при создании надежного экспрессного турбидиметрического метода, является определение условий формирования суспензии нерастворимых белков, при которых оптическая плотность суспензии будет пропорциональна содержанию белка в образце. Установлено, что такая пропорциональность может быть достигнута при содержании растворимых сывороточных белков в диапазоне от 0,05% до 0,1%. При этом, после денатурации сывороточных белков под действием 12% ТХУ, формирование агрегатов белков завершается через 10 мин после внесения ТХУ. За это время достигается практически полное включение белковых молекул в состав агрегатов.

Для обеспечения содержания в получаемом из молока экстракте растворимых сывороточных белков в диапазоне от 0,05% до 0,1% обосновано использование разных разведений молока ацетатным буфером: 1:3 для образцов ультрапастеризованного молока и пастеризованного молока с высокой интенсивностью термообработки; 1:7 для образцов пастеризованного с низкой интенсивностью термообработки; 1:14 для образцов сырого молока.

Разработанный вариант реализации турбидиметрического метода имеет несколько большую погрешность в сравнении с турбидиметрическим методом Harland & Ashworth. Однако точность предлагаемого турбидиметрического метода достаточна для использования его в целях определения интенсивности пастеризации питьевого молока и оценки теплового класса сухого молока.

Предложенный вариант реализации турбидиметрического метода, в сравнении с методом Harland & Ashworth, обладает большей скоростью выполнения анализа, меньшей трудозатратностью и не требует применения дорогостоящих моделей спектрофотометров, имеющих возможность измерения в режиме «пропускание».

## REFERENCES

1. Mandal, R., Bag, S. K., Singh, A. P. (2019). Thermal Processing of Milk. Chapter in a book: Recent Technologies in Dairy Science. Today and Tomorrow's Printers and Publishers, New Delhi, India, 2019.
2. Akkerman, M. (2014). The effect of heating processes on milk whey protein denaturation and rennet coagulation properties. Master Thesis. Department of Food Science, Aarhus University. Retrieved from [http://www.library.au.dk/fileadmin/www.bibliotek.au.dk/fagsider/jordbrug/Specialer/Marije\\_-\\_master\\_thesis.pdf](http://www.library.au.dk/fileadmin/www.bibliotek.au.dk/fagsider/jordbrug/Specialer/Marije_-_master_thesis.pdf) Accessed December 11, 2023.
3. Mahomud, S., Katsuno, N., Nishizu, T. (2017). Role of whey protein-casein complexes on yoghurt texture. *Reviews in Agricultural Science*, 5, 1–12. <https://doi.org/10.7831/ras.5.1>
4. Guinee, T. P. (2021). Effect of high-temperature treatment of milk and whey protein denaturation on the properties of rennet-curd cheese: A review. *International Dairy Journal*, 121, Article 105095. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2021.105095>
5. Barraquio, V. L. (2014). Which milk is fresh? *International Journal of Dairy Processing and Research*, 1(2), 1–6. <https://doi.org/10.19070/2379-1578-140002>
6. Cattaneo, S., Masotti, F., Pellegrino, L. (2008). Effects of overprocessing on heat damage of UHT milk. *European Food Research and Technology*, 226, 1099–1106. <https://doi.org/10.1007/s00217-007-0637-5>
7. International Dairy Federation. (2022). Heat treatment of milk (Bulletin of the IDF n° 516/2022). <https://doi.org/10.56169/XMDR7579>

8. U. S. Dairy Export Council. (2018). Reference Manual for U. S. Milk Powders and Microfiltered Ingredients. Retrieved from [https://www.thinkusadairy.org/assets/documents/Customer%20Site/C3-Using%20Dairy/C3.7-Resources%20and%20Insights/02-Product%20Resources/USD5163-US-Milk-Powders\\_LIVE\\_Web.pdf](https://www.thinkusadairy.org/assets/documents/Customer%20Site/C3-Using%20Dairy/C3.7-Resources%20and%20Insights/02-Product%20Resources/USD5163-US-Milk-Powders_LIVE_Web.pdf) Accessed December 20, 2023.

9. van den Oever, S. P., Mayer, H. K. (2021). Analytical assessment of the intensity of heat treatment of milk and dairy products. *International Dairy Journal*, 121, Article 105097. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2021.105097>

10. Chang, S., Zhang, Y. (2017) Protein Analysis. Chapter in book: Food Analysis. Springer International Publishing. 2017. [https://doi.org/10.1007/978-3-319-45776-5\\_18](https://doi.org/10.1007/978-3-319-45776-5_18)

11. Miralles, B., Bartolomé, B., Amigo, L., Ramos, M. (2000). Comparison of three methods to determine the whey protein to total protein ratio in milk. *Journal of Dairy Science*, 83, 2759–2765. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(00\)75171-X](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(00)75171-X)

12. Melfsen, A., Hartung, E., Haeussermann, A. (2012). Accuracy of milk composition analysis with near infrared spectroscopy in diffuse reflection mode. *Biosystems Engineering*, 112(3), 210–217. <https://doi.org/10.1016/j.biosystemseng.2012.04.003>

13. Etzion, Y., Linker, R., Cogan, U., Shmulevich, I. (2004). Determination of protein concentration in raw milk by mid-infrared fourier transform infrared/attenuated total reflectance spectroscopy. *Journal of Dairy Science*, 87(9), 2779–2788. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(04\)73405-0](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(04)73405-0)

14. Filgueiras, M. F., Borges, E. M. (2022). Quick and cheap colorimetric quantification of proteins using 96-well-plate images. *Journal of Chemical Education*, 99(4), 1778–1787. <https://doi.org/10.1021/acs.jchemed.1c00756>

15. Assink Junior, E. J., de Jesus, P. C., Borges, E. M. (2023). Ehey protein analysis using the lowry assay and 96-well-plate digital images acquired using smartphones. *Journal of Chemical Education*, 100(6), 2329–2338. <https://doi.org/10.1021/acs.jchemed.2c00830>

16. Jeanson, S., Dupont, D., Grattard, N., Rolet-Répécaud, O. (1999). Characterization of the heat treatment undergone by milk using two inhibition ELISAs for quantification of native and heat denatured  $\alpha$ -lactalbumin. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47(6), 2249–2254. <https://doi.org/10.1021/jf9809232>

17. Lu, Y., Fu, T.-J. (2020). Performance of commercial colorimetric assays for quantitation of total soluble protein in thermally treated milk samples. *Food Analytical Methods*, 13, 1337–1345. <https://doi.org/10.1007/s12161-020-01748-w>

18. Harland, H. A., Ashworth, U. S. (1947). A rapid method for estimation of whey proteins as an indication of baking quality of nonfat dry-milk solids. *Food Research*, 12(3), 247–251. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1947.tb16416.x>

19. Patel, H. A., Anema, S. G., Holroyd, S. E., Singh, H., Creamer, L. K. (2007). Methods to determine denaturation and aggregation of proteins in low-, medium- and high-heat skim milk powders. *Le Lait*, 87(4–5), 251–268. <http://doi.org/10.1051/lait:2007027>

20. Zhao, Z., Corredig, M., Gaygadzhiev, Z. (2019). Short communication: Determination of the whey protein index in milk protein concentrates. *Journal of Dairy Science*, 102(9), 7760–7764. <https://doi.org/10.3168/jds.2019-16547>

21. GEA Niro analytical methods. (2009). Whey Protein Nitrogen Index. GEA Niro Method No. A 21 a. Retrieved from <https://www.yumpu.com/en/document/read/6894617/whey-protein-nitrogen-index-wpn-gea-niro> Accessed December 20, 2023.

22. Visser, S., Slangen, C. J., Robben, A. J. P. M. (1992). Determination of molecular mass distributions of whey protein hydrolysates by high-performance size-exclusion chromatography. *Journal of Chromatography A*, 599(1–2), 205–209. [https://doi.org/10.1016/0021-9673\(92\)85474-8](https://doi.org/10.1016/0021-9673(92)85474-8)

23. Montgomery, D. C. (2013). Design and analysis of experiments. John Wiley & Sons, Inc. Hoboken, NJ, United States, 2013.

24. Mahmoud, R., Brown, R. J., Ernstrom, C. A. (1990). Factors affecting measurement of undenatured whey protein nitrogen in dried whey by a modified Harland-Ashworth test. *Journal of Dairy Science*, 73(7), 1694–1699. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(90\)78845-5](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(90)78845-5)

25. Guan, R.-F., Liu, D.-H., Ye, X.-Q., Yang, K. (2005). Use of fluorometry for determination of skim milk powder adulteration in fresh milk. *Journal of Zhejiang University-SCIENCE B*, 6(11), 1101–1106. <https://doi.org/10.1631/jzus.2005.B1101>

26. Rajalingam, D., Loftis, C., Xu, J. J., Kumar, T. K. S. (2009). Trichloroacetic acid-induced protein precipitation involves the reversible association of a stable partially structured intermediate. *Protein Science*, 18(5), 980–993. <https://doi.org/10.1002/pro.108>

27. Sivaraman, T., Kumar, T. K. S., Jayaraman, G., Yu, C. (1997). The Mechanism of 2,2,2-trichloroacetic acid-induced protein precipitation. *Journal of Protein Chemistry*, 16(4), 291–297. <https://doi.org/10.1023/A:1026357009886>

28. Lynch, J. M., Barbano D. M., Fleming J. R. (1998). Indirect and direct determination of the casein content of milk by kjeldahl nitrogen analysis: Collaborative study. *Journal of AOAC INTERNATIONAL*, 81(4), 763–774. <https://doi.org/10.1093/jaoac/81.4.763>

29. Kuramoto, S., Jenness, R., Coulter, S. T., Choi, R. P. (1959). Standardization of the Harland-Ashworth test for whey protein nitrogen. *Journal of Dairy Science*, 42(1), 28–38. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(59\)90520-X](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(59)90520-X)

30. Silver, F. H., Birk, D. E. (1983). Kinetic analysis of collagen fibrillogenesis: I. Use of turbidity-time data. *Collagen and Related Research*, 3, 393–405. [https://doi.org/10.1016/S0174-173X\(83\)80020-X](https://doi.org/10.1016/S0174-173X(83)80020-X)

31. Mehalebi, S., Nicolai, T., Durand, D. (2008). Light scattering study of heat-denatured globular protein aggregates. *International Journal of Biological Macromolecules*, 43(2), 129–135. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2008.04.002>

32. Xiao, F., Huang, J.-C. H., Zhang, B.-J., Cui, C.-w. (2009). Effects of low temperature on coagulation kinetics and floc surface morphology using alum. *Desalination*, 237(1–3), 201–213. <https://doi.org/10.1016/j.desal.2007.12.033>

33. Pearce, K. N., Kinsella, J. E. (1978). Emulsifying properties of proteins: evaluation of a turbidimetric technique. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 26(3), 716–723. <https://doi.org/10.1021/jf60217a041>

34. Berlin, A. A., Kislenco, V. N., Moldovanov, M. A. (1992). Mathematical model of suspension flocculation kinetics. *Colloid and Polymer Science*, 270, 1042–1045. <https://doi.org/10.1007/BF00655974>

35. Stoscheck, C. M. (1990). Quantitation of protein. Chapter in a book: Methods in Enzymology. V. 182. Guide to Protein Purification. Academic Press, Inc. 1990. [https://doi.org/10.1016/0076-6879\(90\)82008-P](https://doi.org/10.1016/0076-6879(90)82008-P)



СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ	AUTHOR INFORMATION
<b>Принадлежность к организации</b>	<b>Affiliation</b>
<p><b>Мягконос Дмитрий Сергеевич</b> — кандидат технических наук, старший научный сотрудник, руководитель направления исследований по прикладной биохимии и энзимологии, Всероссийский научно-исследовательский институт маслоделия и сыроделия 152613, Ярославская область, Углич, Красноармейский бульвар, 19 Тел.: +7-915-973-63-13 E-mail: d.myagkonosov@fncps.ru ORCID: <a href="https://orcid.org/0000-0003-4443-7573">https://orcid.org/0000-0003-4443-7573</a> * автор для контактов</p> <p><b>Топникова Елена Васильевна</b> — доктор технических наук, заместитель директора по научной работе, Всероссийский научно-исследовательский институт маслоделия и сыроделия 152613, Ярославская обл., Углич, Красноармейский бульвар, 19 Тел.: +7-910-666-93-93 E-mail: topnikova.l@yandex.ru ORCID: <a href="https://orcid.org/0000-0003-0225-6870">https://orcid.org/0000-0003-0225-6870</a></p> <p><b>Абрамов Дмитрий Васильевич</b> — кандидат биологических наук, старший научный сотрудник, руководитель направления биохимических исследований по сыроделию и маслоделию, Всероссийский научно-исследовательский институт маслоделия и сыроделия 152613, Ярославская область, Углич, Красноармейский бульвар, 19 Тел.: +7-910-970-42-97 E-mail: d.abramov@fncps.ru ORCID: <a href="https://orcid.org/0000-0001-8326-1932">https://orcid.org/0000-0001-8326-1932</a></p> <p><b>Кашникова Ольга Геннадьевна</b> — младший научный сотрудник, отдел физической химии, Всероссийский научно-исследовательский институт маслоделия и сыроделия 152613, Ярославская обл., Углич, Красноармейский бульвар, 19 Тел.: +7-962-200-14-15 E-mail: o.kashnikova@fncps.ru ORCID: <a href="https://orcid.org/0000-0002-7557-835">https://orcid.org/0000-0002-7557-835</a></p>	<p><b>Dmitry S. Myagkonosov</b>, Candidate of Technical Sciences, Senior Researcher, Head of Research Department in Applied Biochemistry and Enzymology, All-Russian Scientific Research Institute of Butter- and Cheesemaking 19, Krasnoarmeysky Boulevard, Uglich, 152613, Yaroslavl Region, Russia Tel.: +7-915-973-63-13 E-mail: d.myagkonosov@fncps.ru ORCID: <a href="https://orcid.org/0000-0003-4443-7573">https://orcid.org/0000-0003-4443-7573</a> * corresponding author</p> <p><b>Elena V. Topnikova</b>, Doctor of Technical Sciences, Deputy Director for Research, All-Russian Scientific Research Institute of Butter- and Cheesemaking 19, Krasnoarmeysky Boulevard, 152613, Yaroslavl Region, Uglich, Russia Tel.: +7-910-666-93-93 E-mail: topnikova.l@yandex.ru ORCID: <a href="https://orcid.org/0000-0003-0225-6870">https://orcid.org/0000-0003-0225-6870</a></p> <p><b>Dmitry V. Abramov</b>, Candidate of Biological Sciences, Senior Researcher, Head of Biochemical Research in Cheesemaking and Buttermaking, All-Russian Scientific Research Institute of Butter- and Cheesemaking 19, Krasnoarmeysky Boulevard, Uglich, 152613, Yaroslavl Region, Russia Tel.: +7-910-970-42-97 E-mail: d.abramov@fncps.ru ORCID: <a href="https://orcid.org/0000-0001-8326-1932">https://orcid.org/0000-0001-8326-1932</a></p> <p><b>Olga G. Kashnikova</b>, Junior researcher, Department of Physical Chemistry, All-Russian Scientific Research Institute of Butter- and Cheesemaking 19, Krasnoarmeysky Boulevard, Uglich, 152613, Yaroslavl Region, Russia Tel.: +7-962-200-14-15 E-mail: o.kashnikova@fncps.ru ORCID: <a href="https://orcid.org/0000-0002-7557-835">https://orcid.org/0000-0002-7557-835</a></p>
<b>Критерии авторства</b>	<b>Contribution</b>
<p>Авторы в равных долях имеют отношение к написанию рукописи и одинаково несут ответственность за плагиат.</p>	<p>Authors equally relevant to the writing of the manuscript, and equally responsible for plagiarism.</p>
<b>Конфликт интересов</b>	<b>Conflict of interest</b>
<p>Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.</p>	<p>The authors declare no conflict of interest.</p>

DOI: <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2024-7-1-114-124>



Поступила 27.12.2023

Поступила после рецензирования 20.03.2024

Принята в печать 25.03.2024

© Алексеенко Е. В., Каримова Н. Ю., Семенов Г. В., Краснова И. С., Бакуменко О. Е., 2024

<https://www.fsjour.com/jour>

Научная статья

Open access

## ПОЛУЧЕНИЕ И БИОХИМИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА СУБЛИМИРОВАННОГО СОКА ЧЕРНИКИ ИЗ ФЕРМЕНТАТИВНО ОБРАБОТАННЫХ ЯГОД

Алексеенко Е. В., Каримова Н. Ю.\*; Семенов Г. В., Краснова И. С., Бакуменко О. Е.

Российский биотехнологический университет, Москва, Россия

### КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: АННОТАЦИЯ

черника, ферментативный гидролиз, сублимация, сублимированный порошок, органолептические показатели, биохимический состав

Перспективным направлением в технологии переработки ягод черники является получение сублимированных соковых полуфабрикатов. Это направление позволяет комплексно решать вопросы, связанные с сезонностью переработки ягод, с оптимизацией логистических расходов, с расширением географии источников поставки сырья, сохраняя при этом высокие органолептические качества лиофилизированного продукта. Главными преимуществами такого продукта являются характеристики, определяющие свойства свежих ягод, такие как вкус, цвет, аромат, а также их пищевая и биологическая ценность. Целью исследования является разработка технологических решений для получения сублимированного сока ягод черники, выработанного из ферментативно обработанной мякоти ягод, а также определение его биохимических характеристик. В работе использовали химические (титриметрический и гравиметрический методы) и современные физико-химические методы анализа (ВЭЖХ, атомно-абсорбционный спектральный анализ, потенциометрический и спектрофотометрический методы). В результате проведенных исследований были определены параметры процесса сублимационной сушки нативного сока ягод черники: температура сублимации — минус 23±2 °С и давление 70–80 Па, досушивание — при температуре 38–40 °С. Продолжительность процесса сублимационной сушки составила 16 часов до достижения конечной влажности 4%. Показано, что сублимированный сок сохраняет все атрибуты качества нативного сока: вкус, цвет, аромат. Дана характеристика нативному и сублимированному соку черники по химическому составу: исследованы профили флавоноидов, антоцианов, феноло- и органических кислот, состав сахаров, витаминов и минеральных веществ. Установлено, что выбранные параметры сублимации обеспечивают сохранность биологически активных и минорных веществ на уровне не менее 77% от их исходного содержания в нативном соке. Высокую сохранность продемонстрировали кверцетин и ресвератрол, потери эпикатехина составили 9,6%, фенолокислот — 13,7–23,0%, витаминов — 14–22%. В результате обработки сока методом сублимации замечено увеличение содержания дельфинидин-3-глюкозида, цианидин-3-арабинозида и цианидин-3-глюкозида на 20–35%. Доля цианидин-3-галактозида + дельфинидин-3-арабинозида уменьшилась на 65%, а дельфинидин-3-галактозида — в 2,85 раза. Установлено уменьшение в сублимате сока содержания макроэлементов (до 6,0%); более заметные потери зафиксированы по микроэлементам (до 14,8%). Полученные результаты показали перспективность использования технологии и выбранных режимов сублимации при получении сокового черничного сублимата. Такая технология сочетает в себе возможности получения технологичного ягодного ингредиента с максимальным сохранением природных биологически активных и минорных компонентов ягод для применения в продуктах здорового питания.

Received 27.12.2023

Accepted in revised 20.03.2024

Accepted for publication 25.03.2024

© Alekseenko E. V., Karimova N. Yu., Semenov G. V., Krasnova I. S., Bakumenko O. E., 2024

Available online at <https://www.fsjour.com/jour>

Original scientific article

Open access

## PRODUCTION AND BIOCHEMICAL CHARACTERIZATION OF FREEZE-DRIED BLUEBERRY JUICE FROM ENZYMATICALLY PROCESSED BERRIES

Elena V. Alekseenko, Natalya Yu. Karimova\*, Gennadiy V. Semenov, Irina S. Krasnova, Olesya E. Bakumenko

Russian Biotechnological University, Moscow, Russia

### KEY WORDS:

blueberries, enzymatic hydrolysis, freeze-drying, freeze-dried powder, organoleptic characteristics, biochemical composition

### ABSTRACT

Production of freeze-dried juice semi-finished products is a promising direction in the technology of processing blueberries. This direction allows complex problem solving regarding seasonality of berry processing with optimization of logistics costs, extension of the geography of sources of raw material supply while preserving high sensory properties of a freeze-dried product. The main advantages of such a product are characteristics determining properties of fresh berries, including taste, color, aroma, nutritional and biological value. The aim of the study was the development of technological solutions to produce freeze-dried blueberry juice from enzymatically processed blueberry pulp, as well as determination of its biochemical characteristics. Chemical (titrimetric and gravimetric) methods and modern physico-chemical methods (HPLC, atomic absorption spectrometry, potentiometric and spectrophotometric methods) were used in the work. As a result of the performed investigations, parameters have been determined for the process of freeze-drying of native blueberry juice: freeze-drying temperature of -23±2 °C and pressure of 70–80 Pa, secondary drying at a temperature of 38–40 °C. Duration of the freeze-drying process was 16 hours until reaching the final moisture of 4%. It is shown that freeze-dried juice preserves all quality attributes of the native juice: taste, color and aroma. The native and freeze-dried blueberry juice was characterized by the chemical composition. The profile of flavonoids, anthocyanins, phenolic and organic acids, composition of sugars, vitamins and minerals were studied. It has been established that the chosen parameters of freeze-drying ensure preservation of biologically active and minor substances at a level of no less than 77% of the initial content in the native juice. High preservation was demonstrated for quercetin and resveratrol. Losses were 9.6% for epicatechin, 13.7–23.0% for phenolic acids, and 14–22% for vitamins. As a result of juice processing by freeze-drying, an increase was noticed for the content of delphinidin-3-glucoside, cyanidin-3-arabinoside, cyanidin-3-glucoside by 20–35%. The proportion of cyanidin-3-galactoside + delphinidin-3-arabinoside decreased by 65% and that of delphinidin-3-galactoside by 2.85 times. A decrease in the content of macro-elements (up to

ДЛЯ ЦИТИРОВАНИЯ: Алексеенко, Е. В., Каримова, Н. Ю., Семёнов, Г. В., Краснова, И. С., Бакуменко, О. Е. (2024). Получение и биохимическая характеристика сублимированного сока черники из ферментативно обработанных ягод. *Пищевые системы*, 7(1), 114–124. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2024-7-1-114-124>

FOR CITATION: Alekseenko, E. V., Karimova, N. Yu., Semenov, G. V., Krasnova, I. S., Bakumenko, O. E. (2024). Production and biochemical characterization of freeze-dried blueberry juice from enzymatically processed berries. *Food Systems*, 7(1), 114–124. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2024-7-1-114-124>

6.0%) was established in the freeze-dried juice; more noticeable losses were recorded for micro-elements (up to 14.8%). The results obtained show prospects of using the technology and chosen regimes of freeze-drying in production of freeze-dried blueberry juice. This technology combines a possibility of producing a manufacturable berry ingredient with maximum preservation of natural biologically active and minor components of berries for using in products of healthy nutrition.

## 1. Введение

Современные тенденции в пищевой промышленности предполагают широкое применение ягод и продуктов их переработки в производстве продуктов питания, содержащих биологически активные и функционально значимые вещества, которые имеют доказанное положительное воздействие на организм человека [1]. Однако по причине сезонности сбора ягод возможности их круглогодичного применения в пищевых технологиях существенно ограничиваются, что обуславливает целесообразность получения ягодных полуфабрикатов, доступных для использования в течение года. В настоящее время для переработки ягод существует большой арсенал технологических способов и приемов, позволяющих успешно решать эти задачи. Однако вопросы максимального сохранения биогенного потенциала ягод и достижения требуемых показателей качества все еще достаточно актуальны. Не менее важными являются вопросы обеспечения технологичности продуктов переработки ягод, удовлетворяющей критериям логистики и приемлемости в производстве.

Совершенствование современных технологий сушки, таких как вакуумная сублимационная сушка, позволяет комплексно подойти к решению проблем, связанных с сезонностью переработки ягод, с оптимизацией логистических расходов и с расширением географических зон поставки сырья (не только в контексте близости к предприятиям-потребителям), сохраняя при этом высокие органолептические свойства лиофилизированного продукта. Основное внимание уделяется ключевым характеристикам свежих ягод, таким как вкус, цвет и аромат, а также их пищевой и биологической ценности. Эффективность сублимационной вакуумной сушки доказана на примере ягод черники [2,3] клюквы [3,4], вишни, клубники [3], экстракта шиповника [5], плодов маоберри (*Antidesma Bunius L.*) [6], ферментированных ягод брусники [7] и др. Современные исследования в сфере применения сублимационной вакуумной сушки ягод и продуктов их переработки убедительно демонстрируют высокий уровень сохранности природных компонентов ягод в сравнении с другими способами высушивания. Представлены аргументированные данные, иллюстрирующие преимущества сублимационной вакуумной сушки по сравнению с конвективной [3,6] и с распылительной сушкой [5]; отмечается более высокая стабильность биоактивного потенциала лиофилизированных продуктов в процессе хранения [8]. В настоящее время актуальны исследования, направленные на разработку технологических решений, позволяющих получать продукты и пищевые ингредиенты из ягод, обладающих функциональными свойствами [9].

Ягоды черники — признанный источник витаминов, минеральных веществ и минорных биологически активных веществ; они обладают мультитерапевтическим эффектом (антиоксидантным, противовоспалительным, противораковым, нейропротекторным и улучшающим зрение) [10,11,12,13]. Одним из традиционных продуктов переработки ягод являются соки, аккумулирующие в себе достоинства спелых ягод. Эффективным технологическим решением может стать получение сублимированных черничных соков — концентратов полезных для здоровья человека природных компонентов ягод, в том числе натуральных красителей, антиоксидантов и ароматизаторов. Эти концентраты обладают увеличенным сроком годности по сравнению со свежими ягодами, что позволяет расширить ассортимент продуктов здорового питания и обеспечить доступность сезонной продукции в течение года.

Целью исследования является разработка технологических решений для получения сублимированного сока ягод черники, произведенного из ферментативно обработанной мякоти ягод, а также исследование его биохимического состава.

Для реализации поставленной цели решали следующие задачи:

1. Определить режимы замораживания и температуру сублимации сока для осуществления процесса сублимационной сушки;
2. Дать биохимическую характеристику сублимированному соку черники как источнику полезных для здоровья человека природных компонентов ягод;
3. Оценить эффективность выбранных режимов сублимации с позиции сохранности биологически активных веществ сока.

Реализация поставленных задач заложит основы для разработки технологии сублимированного сока ягод черники, обеспечивающей эффективность процесса сублимационной сушки и наиболее полное сохранение БАВ ягод при получении порошкового сублимата.

## 2. Объекты и методы

В качестве объектов исследования использовали следующие сырьевые компоненты: дикорастущая лесная черника шоковой заморозки урожая 2022 года, собранная в лесах Карелии. Ферментные препараты (ФП): «Целлозим премиум» (ООО «БИОТЕХНОАЛЬЯНС», Россия) и «Мацеробациллин» (Институт биохимии и физиологии микроорганизмов имени Г. К. Скрыбина Российской академии наук ИБФМ РАН).

Для обоснования режимов замораживания и температуры сублимации применяли термический анализ. Криоскопическую температуру определяли методом дифференциальной сканирующей калориметрии (ДСК) в интервале температур от +12 °С до минус 50 °С на установке Q20 (TA Instruments, США) при потоке Ar, равном 50 мл/мин. Криоскопическая температура — это температура, при которой начинается выделение кристаллов льда из раствора без переохлаждения.

Полученное значение криоскопических температур для определения доли вымороженной влаги при каждой конкретной температуре определяли по формуле (1):

$$\omega = 1 - \frac{t_{кр}}{t} = 1 - \frac{273 - T_{кр}}{273 - T} \quad (1),$$

где  $\omega$  — доля вымороженной воды;

$t_{кр}$  — криоскопическая температура;

$t$  — текущая температура по шкале Цельсия;

$T_{кр}$  и  $T$  — криоскопическая и текущая температура по шкале Кельвина.

Анализ биохимических характеристик сока и сублимированного порошка черники выполняли с помощью физико-химических методов.

Массовую долю сухих веществ в соке определяли рефрактометрическим методом на рефрактометре ИРФ-454 Б2М (ОАО «Казанский оптико-механический завод», Россия).

Массовую долю влаги определяли гравиметрическим методом (высушиванием до постоянной массы при температуре 105 °С в сушильном шкафу LOIP LF-120/300-VS1 (ЗАО ЛоИП, Россия)).

Массовую долю золы определяли гравиметрическим методом с использованием муфельной печи СНОЛ 3/11 (ООО «Технотерм», Россия).

Содержание антоцианов определяли в соответствии с государственным стандартом<sup>1</sup> на спектрофотометре UNICO 2800 (United Products and Instruments, Inc, США).

Содержание хинной, яблочной и лимонной кислот исследовали методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) на хроматографе Agilent модели 1260 Infinity II LC (Agilent Technologies, США). Использовали аналитическую колонку Zorbax ODS с размером частиц 5 мкм длиной 250 мм и внутренним диаметром 4,6 мм. Подвижная фаза — раствор 0,2 М  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  с 2,4 ед. рН, скорость потока 0,8 мл/мин, температура колонки 20 °С, спектрофотометрический детектор с длиной волны 214 нм, объем инъекции 10 мкл.

Титруемую кислотность определяли потенциометрически в соответствии с государственным стандартом<sup>2</sup> на автоматическом титраторе АТП-02 (ООО «НПО Аквилон», Россия).

Суммарное содержание полифенольных соединений анализировали методом Фолина-Чокальтеу в соответствии с руководством<sup>3</sup> на спектрофотометре UNICO 2800 (United Products and Instruments, Inc, США).

Профиль и количественное содержание полифенолов определяли методом ВЭЖХ. Исследования проводили с применением высокоэффективного жидкостного хроматографа Agilent модели 1260 Infinity II LC (United Products Instruments, Inc, США), использовали

<sup>1</sup> ГОСТ 32709–2014 «Межгосударственный стандарт продукция соковая. Методы определения антоцианов». М.: Стандартинформ, 2014. — 20 с.

<sup>2</sup> ГОСТ ISO 750–2013 «Продукты переработки фруктов и овощей. Определение титруемой кислотности». М.: Стандартинформ, 2019. — 8 с.

<sup>3</sup> Р 4.1.1672–03 «Руководство по методам контроля качества и безопасности биологически активных добавок к пище». Утверждено и введено в действие Главным государственным санитарным врачом Российской Федерации, Первым заместителем Министра здравоохранения Российской Федерации Г. Г. Онищенко 30 июня 2003 г. Электронный ресурс: <https://docs.cntd.ru/document/1200034795>. Дата доступа 05.12.2023

аналитическую колонку Zorbax ODS с размером частиц 5 мкм, длиной 250 мм и внутренним диаметром 4,6 мм, температура колонки 20 °С. Подвижная фаза: элюент А — дистиллированная вода, В — абсолютный метанол, С — смесь дистиллированной воды/ледяная уксусная кислота 96:4 (по объему). Программа градиента: 0 мин — 15% В и 85% С; 15 мин — 75% А и 25% В; 20 мин — 15% А и 85% В; 40 мин — 40% А и 60% В; 45 мин — 5% А и 95% В; 55 мин — 5% А и 95% В; 60 мин — 85% А и 15% В; 70 мин — 85% А и 15% В. При этом скорость подачи элюента составляла: 0 мин — 0,5 мл/мин; от 15 до 70 мин — 0,8 мл/мин. Объем вводимой пробы — 5 мкл. Детектирование осуществляли при 280 (галловая кислота, эпикатехин, коричная кислота), 303 (ресвератрол), 330 (кофейная, хлорогеновая и феруловая кислота) и 360 нм (рутин и кверцетин); указанные длины волн были предварительно выбраны по спектрофотометрическим параметрам определяемых компонентов.

Профиль антоцианов исследовали методом ВЭЖХ на хроматографе Agilent модели 1260 Infinity II LC (United Products and Instruments, Inc, США) с использованием аналитической колонки Zorbax ODS с размером частиц 5 мкм, длиной 250 мм и внутренним диаметром 4,6 мм, температура термостата 40 °С. Детектирование проводили на спектрофотометрическом детекторе при длине волны 518 нм. Объем инъекции — 5 мкл. Подвижная фаза: элюент А — 10%-ный раствор муравьиной кислоты; элюент В — 10%-ный раствор муравьиной кислоты, содержащий 50% ацетонитрила и 40% дистиллированной воды. Программа градиента: 0 мин — 88% А и 12% В; 26 мин — 70% А и 30% В; 35 мин — 0% А и 100% В; 43 мин — 88% А и 12% В.

Содержание никотинамида (РР) определяли методом обращенно-фазовой высокоэффективной жидкостной хроматографии (ОФ-ВЭЖХ). Анализ проводили на хроматографе Agilent модели 1260 Infinity II LC с использованием аналитической колонки Zorbax ODS с размером частиц 5 мкм, длиной 250 мм и внутренним диаметром 4,6 мм. Температура колонки составляла 25 °С, подвижная фаза — раствор дигидрофосфата калия 0,05 моль/л pH=3,0, скорость подачи элюента — 1 мл/мин. Объем вводимой пробы — 20 мкл. Детектирование осуществляли на спектрофотометрическом детекторе при длине волны 261 нм.

Определение витамина С осуществляли с помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии. Использовали хроматограф Agilent модели 1260 Infinity II LC, аналитическую колонку Zorbax ODS с размером частиц 5 мкм, длиной 250 мм и внутренним диаметром 4,6 мм. Подвижная фаза — раствор дигидрофосфата натрия 0,1 моль/л pH=2,5, скорость потока 0,65 мл/мин, температура колонки 25 °С, спектрофотометрический детектор с длиной волны 243 нм, объем инъекции 10 мкл.

Определение пантотеновой кислоты (В5) проводили методом обращенно-фазовой высокоэффективной жидкостной хроматографии (ОФ-ВЭЖХ) на хроматографе Agilent модели 1260 Infinity II LC с использованием аналитической колонки Zorbax ODS с размером частиц 5 мкм длиной 250 мм и внутренним диаметром 4,6 мм. Температура колонки составляла (20±5) °С, подвижная фаза — раствор метанол: водный раствор фосфата натрия (1:9) с pH=2,5, скорость подачи элюента — 0,5 мл/мин. Объем вводимой пробы — 20 мкл. Детектирование осуществляли на диодноматричном детекторе при длине волны 220 нм.

Содержание глюкозы, фруктозы и сахарозы рассчитывали методом обращенно-фазовой высокоэффективной жидкостной хроматографии (ОФ-ВЭЖХ) с использованием хроматографа Agilent модели 1260 Infinity II LC, аналитической колонки Zorbax NH<sub>2</sub> с размером частиц 5 мкм длиной 250 мм и внутренним диаметром 4,6 мм. Подвижная фаза: ацетонитрил и дистиллированная вода в соотношении 80:20, скорость потока 1,4 см<sup>3</sup>/мин, температура термостата колонки (32±0,1) °С, рефрактометрический детектор, температура термостата ячейки детектора (32±0,1) °С, объем инъекции пробы 5 мкл.

Содержание общего белка определяли по методу Кьельдаля на анализаторе азота UDK 159 (VELP Scientifica SRL, Италия), который заключается в определении азота с последующим пересчетом на белок. Учитывая, что в исследуемых образцах низкое содержание липидов, коэффициент пересчета азота на белок брали равным 5,7.

Для определения микро- и макроэлементов использовали метод атомной абсорбции и атомно-абсорбционный спектрометр А-2 ООО «НПО Аквилон» с электротермической ячейкой и пламенной горелкой соответственно. Пробоподготовку проводили с применением системы микроволнового разложения speedwave MWS-2, (Berghof Products + Instruments GmbH, Германия). Разложение пробы проводили при следующих условиях: нагрев до давления 150 кПа со скоростью 20 кПа/мин, затем нагрев до давления 800 кПа со скоростью 80 кПа/мин, выдержка 1 мин при давлении 800 кПа, нагрев до

давления 1500 кПа со скоростью 80 кПа/мин, выдержка 10 мин при давлении 1500 кПа и охлаждение.

*Процедура ферментативной обработки ягод черники.* Ягоды черники дефростировали при комнатной температуре и подвергали измельчению. Полученную массу нагревали до 45 °С, периодически перемешивали, вносили ферментные препараты в концентрациях 0,01% каждый к массе ягодной мезги (8,8 ед. ЦЛС/г целлюлозы и 6667 ед. Пектат-ЛС/г пектина) и проводили гидролиз при температуре 45 °С в течение 90 минут [14]. По окончании гидролиза ферменты инактивировали нагреванием, затем прессованием отжимали сок через нейлоновую ткань плотностью 200 г/см<sup>2</sup>.

Сбор данных и обработку результатов проводили с помощью программных обеспечений: высокоэффективные жидкостные хроматографы Agilent модели 1260 Infinity II LC — OpenLab CDS2.5, потенциометрический титратор АТТИ-02 — Nitrate 5.x, атомно-абсорбционный анализатор — ААWin 3.0.

Все измерения были выполнены в трех параллельных измерениях, результаты представлены как среднее арифметическое ± стандартное отклонение.

### 3. Результаты и обсуждение

#### 3.1. Замораживание сока черники

Для получения мелкокристаллической структуры сок черники замораживали в морозильной камере при температуре минус 40 °С и при интенсивной циркуляции воздуха со скоростью 10 м/с [15].

#### 3.2. Вакуумная сублимационная сушка сока черники

Для выбора температуры сублимации был использован термический анализ сырья. Известно, что для эффективного проведения процесса сублимационной сушки фруктов и ягод из замороженного сырья должно быть удалено фазовым переходом «лед — пар» (т. е. сублимацией) порядка 85–90% содержащейся в объекте сушки влаги [15]. Числовая зависимость доли замороженной влаги при конкретной температуре — это индивидуальный параметр для каждого вида сырья.

Результаты термического анализа показали, что криоскопическая температура сока черники составляет минус 3,35 °С, что является достаточно низким значением для сырья растительного происхождения. По полученному значению криоскопической температуры рассчитана доля вымороженной влаги в зависимости от температуры продукта. Результаты исследования представлены на Рисунке 1.

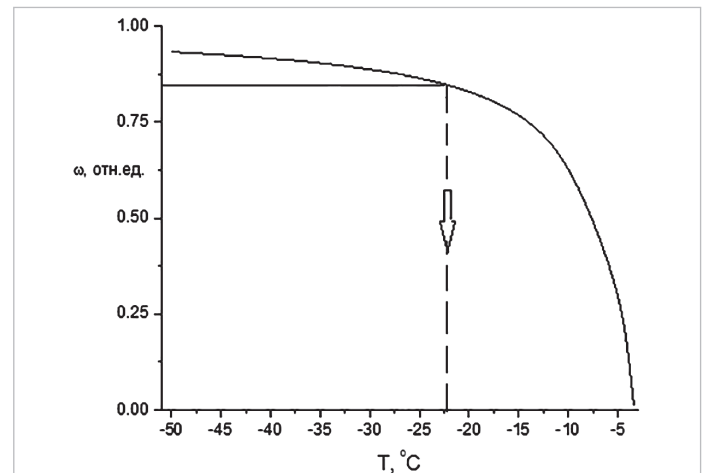


Рисунок 1. Зависимость доли вымороженной влаги от температуры замораживания в соке черники  
Figure 1. Dependence of the proportion of frozen-out moisture on a freezing temperature in blueberry juice

Данные Рисунка 1 свидетельствуют о том, что 90% вымороженной влаги в продукте достигается при температуре минус 23 °С. Это значение выбрано соответствующим температурой фазового перехода «лед — пар» при последующей сублимационной сушке.

Температуру досушивания выбирали из соображения обеспечения сохранности термолабильных компонентов, входящих в состав исследуемых образцов, которая должна составлять 38–40 °С. Продолжительность процесса сублимационной сушки составляла 16 часов. Критерием окончания сушки служила конечная влажность высушенных образцов — 4%.

Сублимированный сок черники представлял собой мелкодисперсный кристаллический порошок с насыщенным фиолетово-черным цветом и ярко выраженным ароматом черники (Рисунок 1). Вкус — кисло-сладкий, черничный, терпкий, вязущий.



Рисунок 2. Сублимированный сок черники из ферментативно обработанных ягод  
Figure 2. Freeze-dried blueberry juice from enzymatically processed blueberries

### 3.3. Исследование биохимического состава нативного и сублимированного соков черники

Для оценки эффективности выбранных режимов сублимации проводили анализ биохимического состава нативного и сублимированного соков. Результаты проведенных исследований представлены в Таблице 1.

Таблица 1. Биохимическая характеристика нативного и сублимированного соков ягод черники

Table 1. Biochemical characterization of the native and freeze-dried blueberry juice

№ п/п	Показатель	Содержание на 100 г абсолютно сухого вещества (а. с. в.)	
		Нативный сок	Сублимированный сок
1.	Сухие вещества, г	10,1±0,04	96,0±2,0
2.	Зола, г	—	2,49±0,03
3.	Белок, г	—	1,32±0,75
4.	Органические кислоты, в пересчете на лимонную, г	14,06±0,15	13,9±0,15
5.	Глюкоза, г	30,10±3,34	29,72±2,84
6.	Фруктоза, г	42,65±5,53	42,0±5,4
7.	Полифенольные соединения, в пересчете на галловую кислоту, мг	4530±627	3940±503
8.	Антоцианы, в пересчете на цианидин-3-гликозид, мг	2594±311	2230±267

Примечание: значения представляют собой средние значения ± стандартное отклонение от среднего значения для группы n=3 при использовании коэффициента Стьюдента 0,95.

По результатам исследования определено, что основная масса сухих веществ в соке и сублимате приходится на органические кислоты и сахара, причем последние преобладают. Сахара представлены глюкозой и фруктозой, фруктоза доминирует, ее содержание в 1,4 раза превышает содержание глюкозы (Таблица 1, Рисунок 3). Сахарозы в соках не обнаружено, что согласуется с ранее проведенными результатами по исследованию химического состава ягод черники [16] (Рисунок 3).

Содержание органических кислот в соке и в сублимированном соке составляет соответственно 14,06±0,15 и 13,9±0,15 г/100 г а. с. в. (Таблица 2). Известно, что органические кислоты положительно влияют на органы системы пищеварения, играют важную роль в поддержании кислотно-щелочного баланса [17,18,19,20]. Кроме того, именно сахара и органические кислоты вносят весомый вклад в формирование вкусовой характеристики соков. Сахаро-кислотный

индекс (СКИ) нативного и сублимированного соков составлял 5,17 и 5,23 соответственно.

Как свидетельствуют данные хроматографических исследований, в наборе органических кислот в соке и сублимате сока выявлены хинная, яблочная, лимонная кислоты (Рисунок 4, Таблица 2).

Таблица 2. Содержание некоторых органических кислот в нативном соке и в сублимате сока черники

Table 2. Content of certain organic acids in native and freeze-dried blueberry juice

№ п/п	Наименование	Содержание, г/100 г абсолютно сухого вещества (а. с. в.)	
		Нативный сок	Сублимированный сок
1.	Хинная кислота	3,5±0,19	3,3±0,18
2.	Яблочная кислота	5,6±0,54	5,45±0,54
3.	Лимонная кислота	4,60±0,23	4,56±0,23

Примечание: значения представляют собой средние значения ± стандартное отклонение от среднего значения для группы n=3 при использовании коэффициента Стьюдента 0,95.

Установлено, что и в соке, и в сублимате сока черники преобладает яблочная кислота как доминирующая в ягодах черники [16]. Ее содержание в нативном и в сублимированном соках превосходит в 1,6 раза и в 1,2 раза содержание хинной и лимонной кислот соответственно. Как показывают результаты исследований, сублимация не оказывает заметного влияния на общее содержание и количественное перераспределение сахаров и органических кислот в соках.

Количество полифенолов в соке и в сублимате сока черники составляет 4530±627 и 3940±503 мг/100 г а. с. в. соответственно: общие потери составили 13% (Таблица 1). Полученные аналогичные результаты согласуются с данными других исследователей [21,22]. В составе полифенольных соединений идентифицированы кверцетин, рутин, эпикатехин, ресвератрол, а также фенолосоединения — галловая, коричная, хлорогеновая, кофейная и феруловая кислоты (Таблица 3).

Таблица 3. Содержание некоторых полифенольных соединений в соке и в сублимате сока черники

Table 3. Content of certain polyphenolic compounds in native and freeze-dried blueberry juice

№ п/п	Наименование	Содержание, мг/кг абсолютно сухого вещества (а. с. в.)	
		Сок	Сублимированный сок
1.	Галловая кислота	877,2±105	675,8±81
2.	Коричная кислота	42,1±5,0	34,5±3,1
3.	Кофейная кислота	173,6±20,8	147,6±14,6
4.	Хлорогеновая кислота	1478,3±177,4	1241,8±119,6
5.	Феруловая кислота	536,4±64,4	462,1±55,5
6.	Кверцетин	42,7±5,1	42,4±5,0
7.	Рутин	367,0±44,0	315,6±34,5
8.	Эпикатехин	11506,3±550	10402,7±600
9.	Ресвератрол	40,3±4,0	39,5,0±3,9

Примечание: значения представляют собой средние значения ± стандартное отклонение от среднего значения для группы n=3 при использовании коэффициента Стьюдента 0,95.

Основная польза полифенолов для организма заключается в их антиоксидантных свойствах [23,24,25,26]. Анализ данных исследований показывает, что среди выявленных флавоноидов преобладает эпикатехин: в соке его количество составляет 11506,3±550 мг/кг а. с. в. и в сублимате — 10402±600 мг/кг а. с. в. Эпикатехин — один из представителей природных мономерных катехиновых соединений, с присутствием которых довольно часто отождествляют чай зеленый. Потери эпикатехина при сублимационной сушке составили 9,6%. О высокой сохранности эпикатехина ранее сообщали [6] в своих исследованиях по изучению фенольного профиля плодов маоберри после сублимационной сушки. Самые известные флавоноиды — кверцетин и его гликозид, рутин — обнаруживаются в количествах 42,7±5,1; 42,4±5,2 мг/кг а. с. в. и 367,0±44,0; 315,6±34,5 мг/кг а. с. в. соответственно. Примечательно, что выбранные режимы сублимации позволяют сохранить в полном объеме кверцетин. Полученные нами результаты согласуются с наблюдениями других исследователей [27]. Потери рутина составили 14%. Рутин способствует улучшению кровообращения, а также укреплению сосудов за счет защиты

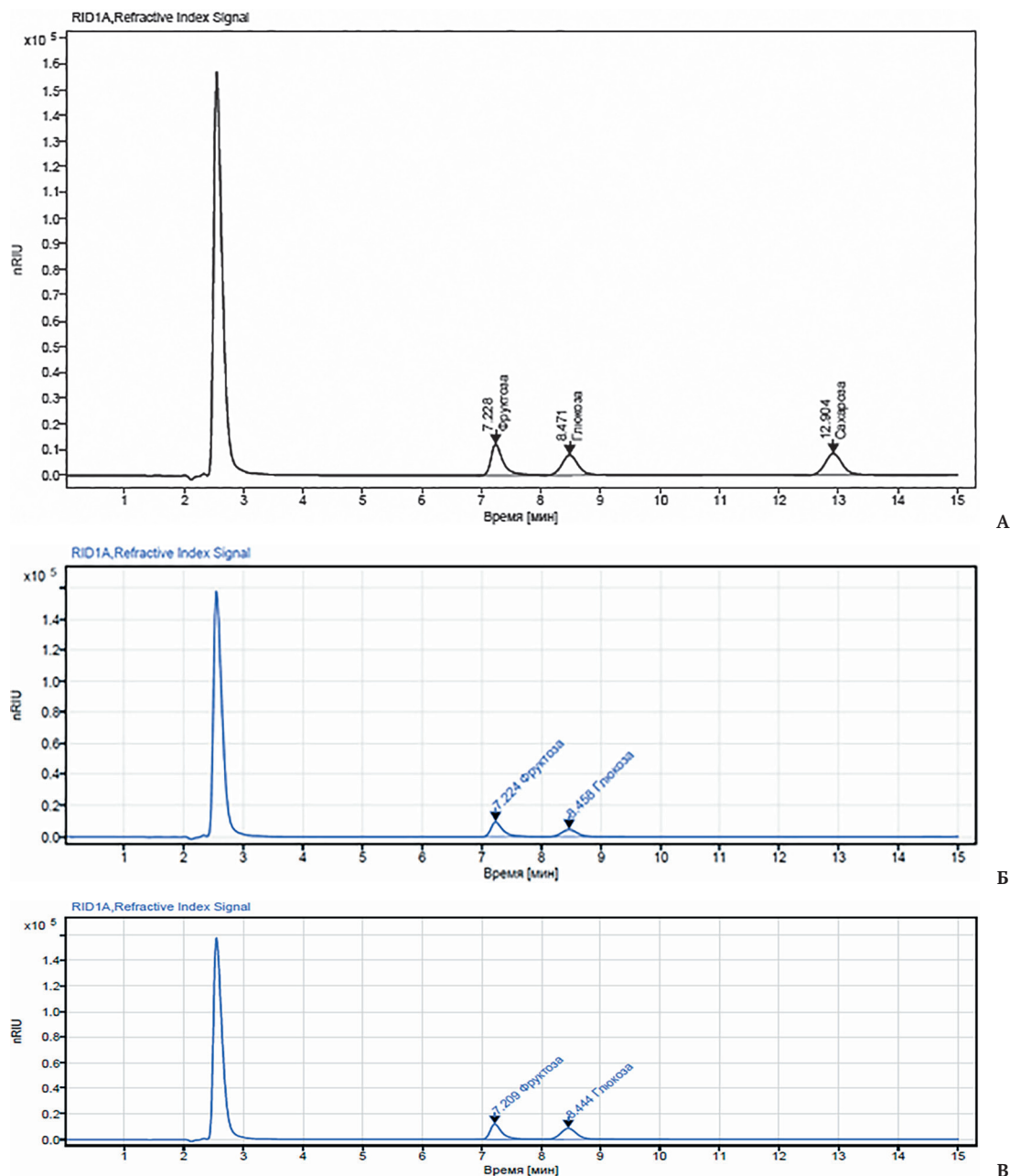


Рисунок 3. Хроматограммы стандартов глюкозы, фруктозы, сахарозы (А), сахаров нативного (Б) и сублимированного соков (В)

Figure 3. Chromatograms of the standards of glucose, fructose, saccharose (A), sugars of native (B) and (B) freeze-dried juice

липопротеинов низкой плотности (ЛПНП) от окисления [28,29]. Мощный фенольный антиоксидант ресвератрол также обнаружен в составе нативного и сублимированного соков. Как и кверцетин, он хорошо сохраняется в процессе сублимации. Установлено, что ресвератрол и кверцетин ингибируют агрегацию тромбоцитов человека *in vitro* и обладают потенциальными противоопухолевыми свойствами за счет индукции клеточной дифференцировки и ингибирования протеинтирозинкиназы [30,31]. Некоторыми исследованиями доказано, что кверцетин и ресвератрол проявляют высокую активность у пациентов с сахарным диабетом 2 типа [31,32], что способствует эффективному снижению риска его развития [32,33]. Приводятся сведения, что ресвератрол способен опосредовать противовоспалительные процессы, ингибируя экспрессию циклооксигеназы-1 и 2 (ЦОГ-1 и 2) и функции гидропероксидазы [34,35].

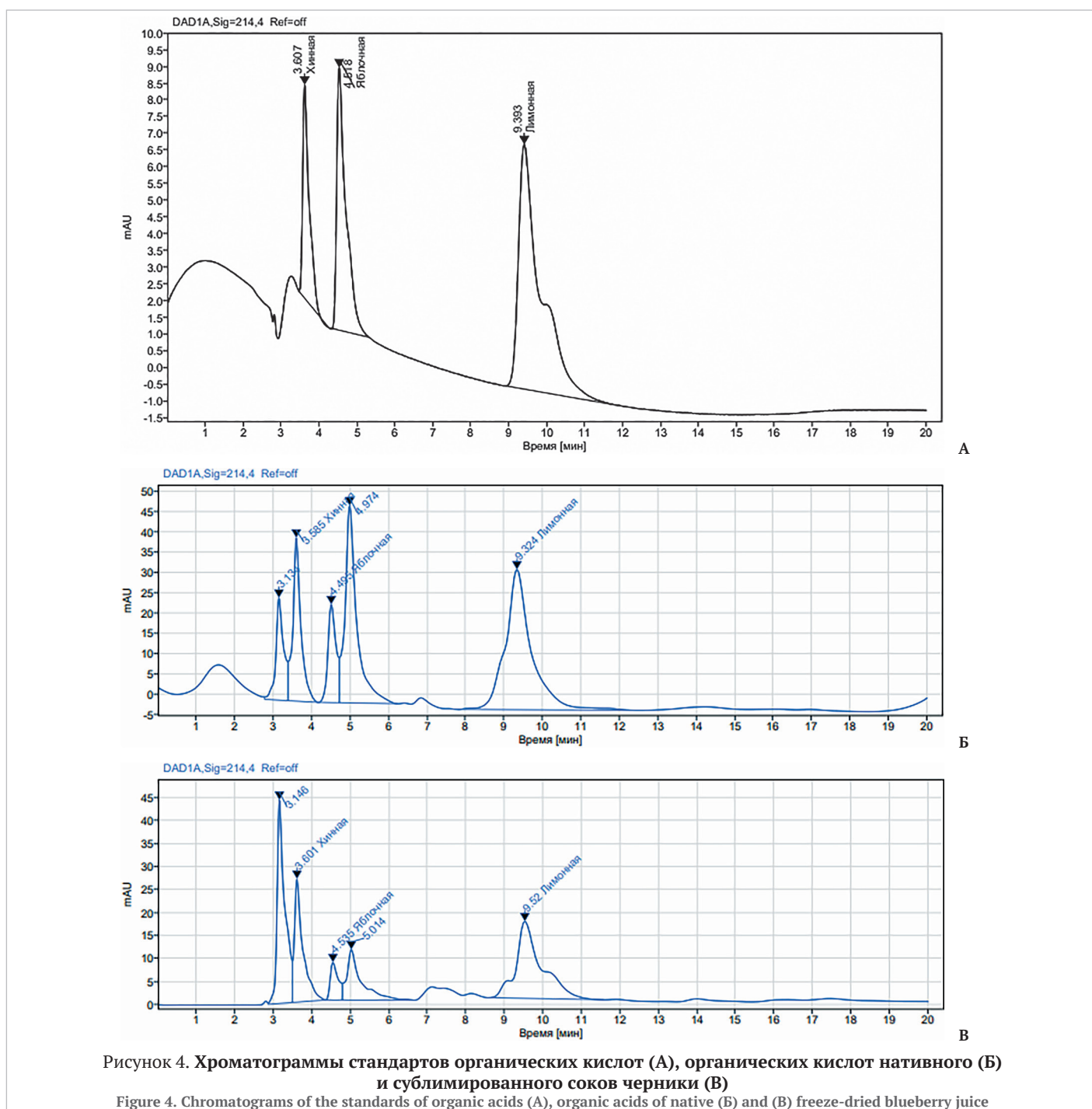
Из обнаруженных гидроксикоричных кислот лидирует хлорогеновая кислота, в меньших концентрациях — феруловая, кофейная и коричная кислоты. Вышеуказанные кислоты обладают высокими антиоксидантными свойствами. Установлено, что антиоксидантная активность хлорогеновой кислоты в 27 раз превышает антиоксидантную активность нарингенина, присущего всем цитрусовым. По литературным данным, самой высокой антиоксидантной активностью

из выявленных в соках оксикоричных кислот обладает кофейная кислота, затем следуют феруловая и хлорогеновая кислоты [36]. Для хлорогеновой и кофейной кислот установлено гипогликемическое действие [37]. В литературе приводятся сведения, что хлорогеновая, кофейная, феруловая кислоты оказывают мягкое гипохолестеринемическое действие, снижают риск развития желчекаменной болезни [38,39,40,41]. Хлорогеновая кислота — самая значимая в количественном отношении фенолокислота ягод черники. Известно, что при тепловом воздействии она разрушается [42]. При сублимационной сушке ее потери составили 15,9%. Тем не менее в ранее проведенных исследованиях показано, что сублимационная сушка является более предпочтительной в отношении сохранности хлорогеновой кислоты в ягодах черники по сравнению с другими видами сушки [3].

В исследуемых образцах идентифицируется галловая кислота, содержание которой в соке составляет  $877,2 \pm 105$  мг/кг а. с. в, а сублимированном соке черники —  $675,8 \pm 47$  мг/кг а. с. в (Таблица 3). Галловая кислота обладает антибактериальным, антивирусным, гипогликемическим, антиоксидантным действием, ускоряет заживление ран и ожогов [43,44,45,46].

Известно, что различные биоактивные фенольные соединения эффективны при гипертонии [47,48], показана эффективность





полифенолов при ожирении [49,50,51,52]. В их числе — обнаруженные в соках отдельные представители — кверцетин, рутин, феруловая, кофейная, галловая кислоты, ресвератрол.

Анализ полученных результатов показал, что совокупные потери выявленных полифенольных веществ при сублимации составили 11,2%: по отдельным представителям — 9,6–23% (Таблица 3). Полученные результаты еще раз подтвердили вывод о том, что различные фенольные соединения обладают разной термической стабильностью [6,53] и кинетика термической деструкции всех фенольных соединений определяется главным образом фенольным составом, а также характеристиками сырья [54]. Наиболее уязвимыми с позиции сохранности в процессе сублимации показали себя фенолоксиды: их потери составили 13,7–23%. Самые большие потери претерпевает галловая кислота (23%), наименьшие — феруловая (13,7%) (Таблица 3).

В семействе флавоноидов особое место занимают антоцианы, обуславливающие характерную окраску ягод и продуктов их переработки [55]. Доказана роль антоцианов в укреплении стенок сосудов и соединительной ткани как антиоксидантных и бактерицидных агентов [56,57,58]. Результаты проведенных исследований свидетельствуют о том, что нативный и сублимированные соки содержат

значительные количества антоциановых пигментов: 2594 мг/100 г а. с. в. и 2230 мг/100 г а. с. в. соответственно: потери антоцианов при сублимации составили 14% (Таблица 1). Подобная тенденция продемонстрирована на примере ягод клюквы: при температуре сублимационной сушки 30–50°C потери антоциановых соединений в целой ягоде и мезге не превышали 20% [4]. Показан более низкий уровень сохранности (до 65%) антоцианов в ягодах черники при сублимационной сушке [21]. При производстве ягодных порошков для сохранения антоциановых пигментов способ сублимационной сушки является наиболее выгодным, это описано в работе [8].

Сравнительный анализ результатов изучения сохранности фенолоксидов и антоцианов показывает, что полученные данные выходят за рамки представлений, сформулированных в работах [6,59] и иллюстрирующих большую толерантность к теплу фенолоксидов, чем антоциановых соединений. В настоящих исследованиях установлена обратная тенденция: потери фенолоксидов (в частности, галловой кислоты — 23%) были выше, чем потери антоцианов (14%). В этом контексте следует сделать акцент и на том, что фенолоксиды показали свою большую нестабильность и в сравнении с флавоноидами (кверцетин, рутин, эпикатехин): их потери выше (на 13,7–23%), чем

у отдельных представителей флавоноидов (Таблица 3), что также не согласуется с выводами авторов вышеприведенных работ. По всей видимости, это лишний раз подтверждает тот факт, что термическая деструкция фенольных соединений определяется не только термостабильностью отдельных ее представителей, но и фенольной композицией обрабатываемого сырья и его характеристиками.

Анализ профиля антоцианов соков черники показал наличие специфических индивидуальных антоцианов, построенных на основе пяти антоцианидинов — цианидина, дельфинидина, петунидина, пеонидина, мальвидина, гликозильрованных остатками глюкозы, галактозы, арабинозы (Таблица 4, Рисунок 5), что согласуется с результатами работ других ученых [27].

Таблица 4. Качественный и количественный состав антоцианов сока и сублимированного сока черники

Table 4. Qualitative and quantitative composition of anthocyanins of native and freeze-dried blueberry juice

№ п/п	Наименование антоциана	Содержание, %	
		Сок	Сублимированный сок
1	Дельфинидин-3-галактозид Dpd-gal	10,6	3,7
2	Дельфинидин-3-глюкозид Gpd-3-glu	13,2	17,8
3	Цианидин-3-галактозид Cyd-3-gal + Дельфинидин-3-арабинозид Dpd-3-ara	16,1	9,7
4	Цианидин-3-арабинозид Cyd-3-ara	10,3	12,8
5	Цианидин-3-глюкозид Cyd-3-glu	14,4	19,2
6	Петунидин-3-глюкозид Ptd-3-glu	4,5	2,2
7	Петунидин-3-арабинозид Ptd-3-ara	3,5	3,2
8	Пеонидин-3-глюкозид Pnd-3-glu + Мальвидин-3-галактозид Mvd-3-gal	7,2	8,5
9	Пеонидин-3-арабинозид Pnd-3-ara	12,7	15,3
10	Мальвидин-3-глюкозид Mvd-3-glu	4,7	4,4
11	Мальвидин-3-арабинозид Mvd-3-ara	2,8	3,2

Примечание: значения представляют собой средние значения ± стандартное отклонение от среднего значения для группы n = 3 при использовании коэффициента Стьюдента 0,95.

В составе нативного сока преобладали антоцианы, построенные на основе цианидина, дельфинидина и пеонидина: цанидин-3-галактозид + дельфинидин-3-арабинозид (16,1%), цианидин-3-глюкозид

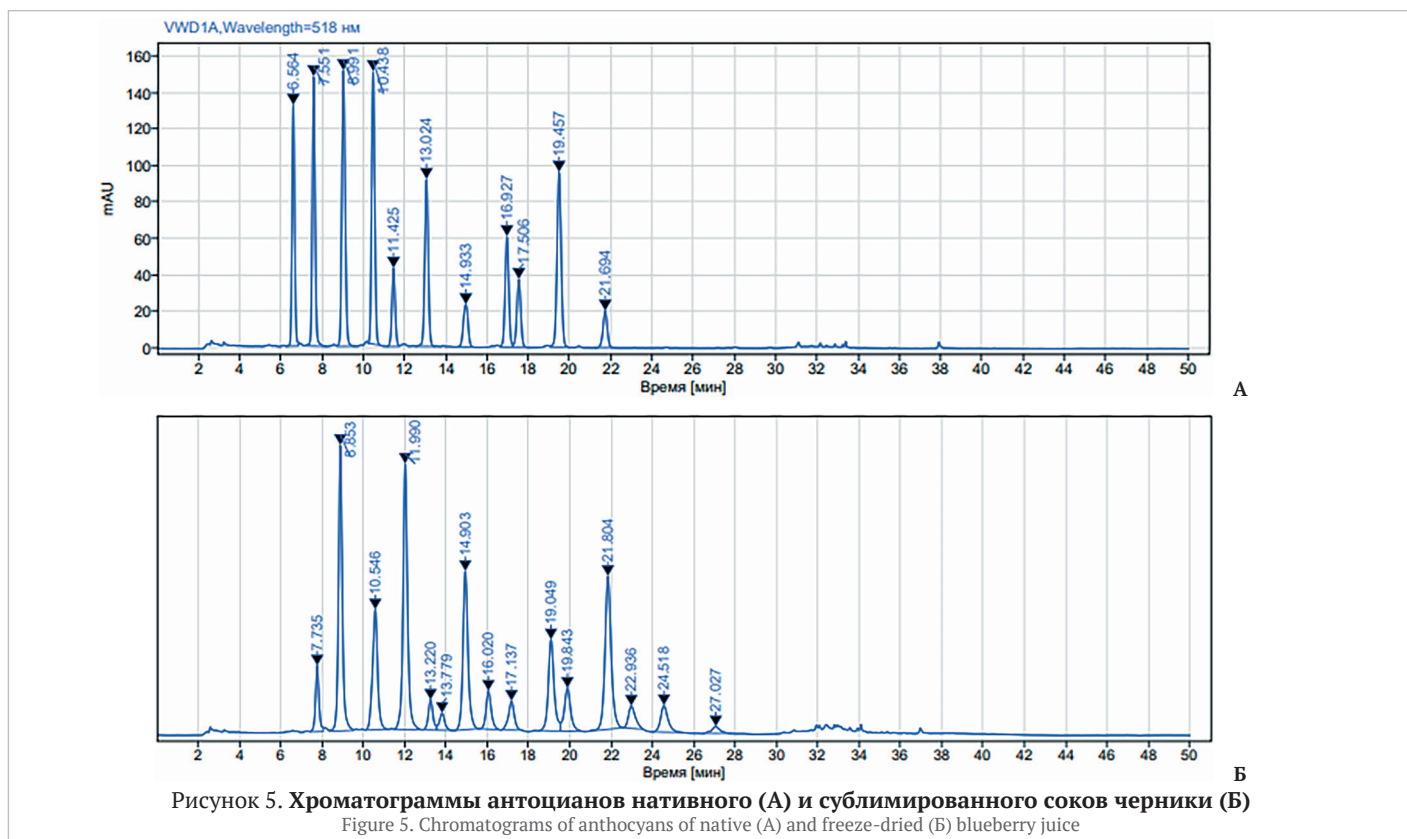
(14,4%), дельфинидин-3-глюкозид (13,2%), пеонидин-3-арабинозид (12,7%), дельфинидин-3-галактозид (10,6%), цианидин-3-арабинозид (10,3%) (Таблица 4). Содержание остальных представителей антоциановых соединений находилось на уровне 2,8–7,2%. Наиболее значимые в количественном отношении антоцианы показали хорошую сохранность и при сублимации: их содержание увеличилось в 1,2–1,35 раза, в том числе цианидин-3-глюкозида — одного из доминирующих антоцианов сока, что согласуется с ранее проведенными исследованиями, демонстрирующими высокую его сохранность в плодах маоберри и черники при сублимационной сушке [6,27]. Исключение составили цианидин-3-галактозид + дельфинидин-3-арабинозид и дельфинидин-3-галактозид: их доля в сублимате снизилась соответственно в 1,65–2,85 раза (Таблица 4).

Результаты исследования содержания витаминов (витамина С, никотинамида, витамина В5) в сублимате и в нативном соке показали их достаточно высокую сохранность при сублимации: потери составили 14–22%. Приводятся сведения о том, что сохранность витаминов группы В при сублимационной сушке в 3,5 раза выше, чем при сушке горячим воздухом, а сохранность витамина С — в 1,9 раза [3]. Витамин С — самый термолабильный витамин. В нашем исследовании наибольшие потери (22%) претерпел витамин С: его содержание снизилось с 358,5 ± 15,6 мг/100 г а. с. в. в нативном соке до 280,0 ± 12,2 мг/100 г а. с. в. в сублимате. Однозначных выводов о сохранности витамина С в литературе не приводится. Авторы указывают на широкую вариабельность результатов, характеризующих степень сохранности витамина С в плодах и ягодах при сублимационной сушке [60]. По-видимому, это связано с особенностями высушиваемого сырья, его химического состава, а также с условиями сублимации (Таблица 5).

Таблица 5. Содержание витаминов в соке и сублимате черники  
Table 5. Content of vitamins in native and freeze-dried blueberry juice

№ п/п	Наименование витамина	Содержание, на абсолютно сухое вещество (а. с. в.)	
		Сок	Сублимированный сок
1.	Витамин С, мг/100 г	358,5 ± 15,6	280,0 ± 12,2
2.	Никотинамид РР, мг/100 г	1,67 ± 0,14	1,42 ± 0,12
3.	Витамин В5, мг/100 г	108,2 ± 10,7	94,9 ± 7,0

Примечание: значения представляют собой средние значения ± стандартное отклонение от среднего значения для группы n = 3 при использовании коэффициента Стьюдента 0,95.



Проведен анализ макро- и микроэлементного состава нативного и сублимированного соков черники (Таблица 6). По данным Таблицы 6 следует, что соки содержат множество минеральных компонентов, выполняющих многочисленные функции в организме человека, что соки богаты различными минеральными компонентами, выполняющими многочисленные функции в организме человека.

Таблица 6. Содержание микро- и макроэлементов в соке и в сублимате черники

Table 6. Content of micro- and macro-elements in native and freeze-dried blueberry juice

№ п/п	Наименование элемента	Содержание на 100 г абсолютно сухого вещества (а. с. в.)	
		Сок	Сублимированный сок
Макроэлементы			
1.	Натрий, мг	32,0±3,2	30,0±3,0
2.	Кальций, мг	69,1±6,9	66,3±6,6
3.	Магний, мг	48,0±4,8	47,5±4,8
4.	Калий, мг	420,8±16,6	415,5±16,4
5.	Фосфор, мг	69,9±6,9	70,0±7,0
Микроэлементы			
6.	Железо, мг	4,13±1,44	3,9±1,36
7.	Марганец, мг	1,41±0,16	1,25±0,14
8.	Цинк, мкг	0,74±0,15	0,63±0,13
9.	Алюминий, мкг	0,48±0,10	0,42±0,09
10.	Медь, мкг	6,8±0,68	6,6±0,66
11.	Никель, мкг	0,049±0,010	0,056±0,010
12.	Селен, мг	0,22±0,07	0,20±0,07

Примечание: значения представляют собой средние значения ± стандартное отклонение от среднего значения для группы n = 3 при использовании коэффициента Стьюдента 0,95.

Целесообразность определения минеральных веществ в составе соков была продиктована их физиологической значимостью и эссенциальностью для организма человека. По количеству макроэлементов преобладающим является калий, далее в порядке убывания располагаются фосфор, кальций, магний, натрий. Макроэлементы участвуют в генерации и проведении возбуждения сердечной мышцы (калий, магний), входят в состав зубов, костей (кальций, магний), белков, нуклеиновых кислот, фосфолипидов (фосфор), регулируют водно-солевой баланс (натрий). В тройке лидеров микроэлементов присутствуют железо, марганец и селен (Таблица 7). Микроэлементы участвуют во всех основных процессах, протекающих в организме, поскольку входят в состав гормонов, витаминов, ферментов. Они необходимы для роста (цинк, марганец), кроветворения (железо, медь, цинк), синтеза соединительной ткани (медь), регулируют угле-

водный и жировой обмен (никель), защищают организм от вредных внешних воздействий (селен). Анализ представленных результатов показывает, что содержание выявленных макроэлементов в нативном и сублимированном соках меняется незначительно в процессе сублимации: потери составляют 0,1–6,0%, что согласуется с данными, полученными другими авторами [61]. Более заметное уменьшение наблюдается по содержанию микроэлементов — на 2,9–14,8%.

#### 4. Заключение

В результате проведенных исследований определены параметры процесса сублимационной сушки нативного сока ягод черники: температура сублимации — минус 23±2 °С, температура досушки — 38–40 °С. Продолжительность процесса сублимационной сушки для сока составляла 16 часов до получения конечной влажности 4%. Показано, что сублимированный сок сохраняет все атрибуты качества нативного сока: вкус, цвет, аромат.

На основании сравнительного биохимического анализа показано, что соки содержат богатый комплекс природных пищевых, биологически активных и минорных компонентов: исследованы профили флавоноидов, антоцианов, феноло- и органических кислот, состав сахаров, витаминов и минеральных веществ. Показано, что процесс сублимации не сопровождается качественными изменениями состава соков: в них идентифицируется одинаковый набор природных соединений. Установлено, что выбранные параметры сублимации позволяют минимизировать потери природных компонентов ягод: сохранность биологически активных и минорных веществ составила не менее 77% от их исходного содержания в нативном соке. Высокую сохранность продемонстрировали кверцетин и ресвератрол, потери эпикатехина составили 9,6%, фенолокислот 13,7–23,0%, витаминов 14–22%. Наиболее уязвимыми с позиции сохранности показали себя витамин С и галловая кислота: их содержание в сублимированном соке снизилось на 22 и 23% соответственно по сравнению с нативным соком. Анализ антоцианового профиля нативного и сублимированного соков выявил изменения в количественных соотношениях отдельных антоциановых соединений. Показано, что одни из наиболее значимых в количественном отношении антоцианы нативного сока (дельфинидин-3-глюкозид, цианидин-3-арабинозид, цианидин-3-глюкозид) хорошо сохраняются при сублимации: их содержание в процентном соотношении увеличилось в 1,2–1,35 раза, в то время как доля цианидин-3-галактозида + дельфинидин-3-арабинозида и дельфинидин-3-галактозида в сублимате снизилась соответственно в 1,65 и 2,85 раза. Установлено уменьшение в сублимате содержания макроэлементов (до 6,0%); более заметные потери зафиксированы у микроэлементов (до 14,8%). Анализ представленных результатов показал перспективность использования при получении сокового черничного сублимата технологии и выбранных режимов сублимации, обеспечивающих возможность получения технологичного ягодного ингредиента с максимальным сохранением природных биологически активных и минорных компонентов ягод для применения в продуктах здорового питания.

## БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

- Granato, D., Barba, F. J., Bursac Kovačević, D., Lorenzo, J. M., Cruz, A. G., Putnik, P. (2020). Functional foods: Product development, technological trends, efficacy testing, and safety. *Annual Review of Food Science and Technology*, 11, 93–118. <https://doi.org/10.1146/annurev-food-032519-051708>
- Muñoz-Fariña, O., López-Casanova, V., García-Figueroa, O., Roman-Benn, A., Ah-Hen, K., José M. Bastias-Montes, J. M. et al. (2023). Bioaccessibility of phenolic compounds in fresh and dehydrated blueberries (*Vaccinium corymbosum* L.). *Food Chemistry Advances*, 2, Article 100171. <https://doi.org/10.1016/j.focha.2022.100171>
- Nemzer, B., Vargas, L., Xia, X., Sintara, M., Feng, H. (2018). Phytochemical and physical properties of blueberries, tart cherries, strawberries, and cranberries as affected by different drying methods. *Food Chemistry*, 262, 242–250. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.04.047>
- Rudy, S., Dziki, D., Krzykowski, A., Gawlik-Dziki, U., Polak, R., Rozylo, R. et al. (2015). *LWT — Food Science and Technology*, 63(1), 497–503. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2015.03.067>
- Dincer, E. I., Temiz, H. (2023). Investigation of physicochemical, microstructure and antioxidant properties of firethorn (*Pyracantha coccinea* var. *lalandi*) microcapsules produced by spray-dried and freeze-dried methods. *South African Journal of Botany*, 155, 340–354. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2023.02.024>
- Kittibunchakul, S., Temviriyankul, P., Chaikham, P., Kemsawasd, V. (2023). Effects of freeze drying and convective hot-air drying on predominant bioactive compounds, antioxidant potential and safe consumption of maoberry fruits. *LWT*, 184, Article 114992. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2023.114992>
- Алексеев, Е. В., Быстрова, Е. А., Семенов, Г. В., Черных, В. Я. (2017). Технология получения и оценка качества сублимированного порошка из ягод брусники. *Пищевая промышленность*, 11, 70–73.
- Cheng, A.-W., Xie, H.-X., Qi, Y., Liu, C., Guo, X., Sun, J.-Y. et al. (2017). Effects of storage time and temperature on polyphenolic content and qualitative characteristics of freeze-dried and spray-dried bayberry powder. *LWT*, 78, 235–240. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2016.12.027>
- Pap, N., Fidelis, M., Azevedo, L., do Carmo, M. A. V., Wang, D., Mocan, A. et al. (2021). Berry polyphenols and human health: Evidence of antioxidant, anti-inflammatory, microbiota modulation, and cell-protecting effects. *Current Opinion in Food Science*, 42, 167–186. <https://doi.org/10.1016/j.cofs.2021.06.003>
- Zhang, Y., Liu, W., Wei, Z., Yin, B., Man, C., Jiang, Y. (2021). Enhancement of functional characteristics of blueberry juice fermented by *Lactobacillus plantarum*. *LWT*, 139, Article 110590. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.110590>
- Miller, K., Feucht, W., Schmid, M. (2019). Bioactive compounds of strawberry and blueberry and their potential health effects based on human intervention studies: A brief overview. *Nutrients*, 11(7), Article 1510. <https://doi.org/10.3390/nu11071510>
- Pires, T. C. S. P., Caleja, C., Santos-Buelga, C., Barros, L., Ferreira, I. C. F. R. (2020). *Vaccinium myrtillus* L. fruits as a novel source of phenolic compounds with health benefits and industrial applications—a review. *Current Pharmaceutical Design*, 26(16), 1917–1928. <https://doi.org/10.2174/1381612826666200517132507>
- Urbanaviciene, D., Bobinaite, R., Viskelis, P., Bobinas, C., Petruskevicius, A., Klavins, L. et al. (2022). Geographic variability of biologically active compounds, antioxidant activity and physico-chemical properties in wild Bilberries (*Vaccinium myrtillus* L.). *Antioxidants*, 11(3), Article 588. <https://doi.org/10.3390/antiox11030588>
- Каримова, Н. Ю., Алексеев, Е. В., Цветкова, А. А. (26–27 октября, 2022). Оценка эффективности применения отечественных и импортных ферментных препаратов для обработки ягод черники при получении сока. Материалы XXII международной научно-практической конференции. Барнаул: АлтГТУ, 2022.

15. Семенов, Г. В., Краснова, И. С. (2021). Сублимационная сушка. М.: Делфи, 2021.
16. Каримова, Н. Ю., Алексенко, Е. В., Цветкова, А. А., Бакуменко, О. Е. (2023). Сравнительная биохимическая характеристика ягод лесной и садовой черники как обоснование для применения в качестве источника функциональных пищевых ингредиентов. *Химия растительного сырья*, 4, 199–208. <https://doi.org/10.14258/jcprm.20230412171>
17. Wang, Y., Fong, S. K., Singh, A. P., Vorsa, N., Johnson-Cicalese, J. (2019). Variation of anthocyanins, proanthocyanidins, flavonols, and organic acids in cultivated and wild diploid blueberry species. *HortScience*, 54(3), 576–585. <https://doi.org/10.21273/HORTSCI13491-18>
18. Pires, T. C. S. P., Dias, M. I., Calhella, R. C., Alves, M. J., Santos-Buelga, C., Ferreira, I. C. F. R. et al. (2021). Development of new bilberry (*Vaccinium myrtillus* L.) based snacks: Nutritional, chemical and bioactive features. *Food Chemistry*, 334, Article 127511. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.127511>
19. Liu, Q., Tang, G.-Y., Zhao, C.-N., Feng, X.-L., Xu, X.-Y., Cao, S.-Y. et al. (2018). Comparison of antioxidant activities of different grape varieties. *Molecules*, 23(10), Article 2432. <https://doi.org/10.3390/molecules23102432>
20. Liu, Q., Tang, G.-Y., Zhao, C.-N., Gan, R.-Y., Li, H.-B. (2019). Antioxidant activities, phenolic profiles, and organic acid contents of fruit vinegars. *Antioxidants*, 8(4), Article 78. <https://doi.org/10.3390/antiox8040078>
21. Никитенко, А. Н., Мазур, А. М., Синило, А. А., Клыпугенко, М. А. (2023). Исследование влияния технологических параметров переработки фруктового сырья на изменения содержания фенольных веществ. *Пищевая промышленность: наука и технологии*, 16(3), 19–26.
22. Альдиева, А. Б., Хамитова, Д. Д. (2023). Влияние параметров сублимационной сушки на содержание полифенолов и антоцианов в ягодах клубники. *Вестник Алматинского технологического университета*, 1(3), 52–56. <https://doi.org/10.48184/2304-568X-2023-3-52-56>
23. Петров, Н. А., Сидорова, Ю. С., Перова, И. Б., Кочеткова, А. А., Мазо, В. К. (2019). Комплекс полифенолов черники, сорбированных на гречневой муке, как функциональный пищевой ингредиент. *Вопросы питания*, 88(6), 68–72. <https://doi.org/10.24411/0042-8833-2019-10066>
24. Colak, N., Torun, H., Gruz, J., Strnad, M., Hermosin-Gutiérrez, I., Hayirlioglu-Ayaz, S. et al. (2016). Bog bilberry phenolics, antioxidant capacity and nutrient profile. *Food Chemistry*, 201, 339–349. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.01.062>
25. Dare, A. P., Günther, C. S., Grey, A. C., Guo, G., Demarais, N. J., Cordiner, S. et al. (2022). Resolving the developmental distribution patterns of polyphenols and related primary metabolites in bilberry (*Vaccinium myrtillus*) fruit. *Food Chemistry*, 374, Article 131703. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.131703>
26. Kolarov, R., Tukuljac, M. P., Kolbas, A., Kolbas, G., Ognjanov, V. et al. (2021). Antioxidant capacity of wild-growing bilberry, elderberry, and strawberry fruits. *Acta Horticulturae et Regiotechnicae*, 24(2), 119–126. <https://doi.org/10.2478/ahr-2021-0035>
27. Ochmian, I., Figiel-Kroczyńska, M., Lachowicz, S. (2020). The quality of freeze-dried and rehydrated blueberries depending on their size and preparation for freeze-drying. *Acta Universitatis Cibiniensis. Series E: Food Technology*, 24(1), 61–78. <https://doi.org/10.2478/auceft-2020-0006>
28. Imani, A., Maleki, N., Bohlouli, S., Kouhsoltani, M., Sharifi, S., Dizaj, S. M. (2021). Molecular mechanisms of anticancer effect of rutin. *Phytotherapy Research*, 35(5), 2500–2513. <https://doi.org/10.1002/ptr.6977>
29. Satari, A., Ghasemi, S., Habtemariam, S., Asgharian, S., Lorigooini, Z. (2021). Rutin: A flavonoid as an effective sensitizer for anticancer therapy; insights into multifaceted mechanisms and applicability for combination therapy. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2021, Article 9913179. <https://doi.org/10.1155/2021/9913179>
30. Голубев, А. Г., Семиглазова, Т. Ю., Клюге, В. А., Каспаров, Б. С., Беляев, А. М., Анисимов В. Н. (2021). Три пандемии сразу: неинфекционная (онкологическая), инфекционная (COVID-19), и поведенческая (гипоклизия). *Вопросы онкологии*, 67(2), 163–180. <https://doi.org/10.37469/0507-3758-2022-68-6-708-716>
31. Трусов, Н. В., Балакина, А. С., Шипелин, В. А., Гмошинский, И. В., Тутельян, В. А. (2021). Влияние ресвератрола, карнитина, кверцетина и ароматических аминокислот на ферменты метаболизма ксенобiotиков и антиоксидантной защиты в печени при ожирении у крыс с разным генотипом. *Вопросы питания*, 90(2(534)), 50–62. <https://doi.org/10.33029/0042-8833-2021-90-2-50-62>
32. Bostancieri, N., Elbe, H., Eşrefoğlu, M., Vardi, N. (2022). Cardioprotective potential of melatonin, quercetin and resveratrol in an experimental model of diabetes. *Biotechnic and Histochemistry*, 97(2), 152–157. <https://doi.org/10.1080/10520295.2021.1918766>
33. Inchingolo, A. D., Inchingolo, A. M., Malcangi, G., Avantario, P., Azzollini, D., Buongiorno, S. et al. (2022). Effects of resveratrol, curcumin and quercetin supplementation on bone metabolism — A systematic review. *Nutrients*, 14(17), Article 3519. <https://doi.org/10.3390/nu14173519>
34. Huang, X.-T., Li, X., Xie, M.-L., Huang, Z., Huang, Y.-X., Wu, G.-X. et al. (2019). Resveratrol: Review on its discovery, anti-leukemia effects and pharmacokinetics. *Chemico-Biological Interactions*, 306, 29–38. <https://doi.org/10.1016/j.cbi.2019.04.001>
35. Meng, T., Xiao, D., Muhammed, A., Deng, J., Chen, L., He, J. (2021). Anti-inflammatory action and mechanisms of resveratrol. *Molecules*, 26(1), Article 229. <https://doi.org/10.3390/molecules26010229>
36. Быстрова, Е. А., Алексенко, Е. В. (2017). Исследование компонентного состава фенольных соединений и антиоксидантной активности брусничного сока. *Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология*, 7(3(22)), 19–26. <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2017-7-3-19-26>
37. Kusumah, J., de Mejia, E. G. (2022). Coffee constituents with antiadipogenic and anti-diabetic potentials: A narrative review. *Food and Chemical Toxicology*, 161, Article 112821. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2022.112821>
38. Singh, A. K., Rana, H. K., Singh, V., Yadav, T. C., Varadwaj, P., Pandey, A. K. (2021). Evaluation of antidiabetic activity of dietary phenolic compound chlorogenic acid in streptozotocin induced diabetic rats: Molecular docking, molecular dynamics, in silico toxicity, in vitro and in vivo studies. *Computers in Biology and Medicine*, 134, Article 104462. <https://doi.org/10.1016/j.compbiomed.2021.104462>
39. Li, H., Zhao, J., Deng, W., Li, K., Liu, H. (2020). Effects of chlorogenic acid-enriched extract from *Eucommia ulmoides* Oliver leaf on growth performance and quality and oxidative status of meat in finishing pigs fed diets containing fresh or oxidized corn oil. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 104(4), 1116–1125. <https://doi.org/10.1111/jpn.13267>
40. Zhang, J., Wang, Z., Shi, Y., Xia, L., Hu, Y., Zhong, L. (2023). Protective effects of chlorogenic acid on growth, intestinal inflammation, hepatic antioxidant capacity, muscle development and skin color in channel catfish *Ictalurus punctatus* fed an oxidized fish oil diet. *Fish and Shellfish Immunology*, 134, Article 108511. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2022.108511>
41. Азарнова, Т. О., Резвых, А. М., Максимов, В. И., Кочиш, И. И., Луговая, И. С. (2021). Антиоксидантные свойства феруловой кислоты и основные результаты их реализации в промышленной инкубации индеек. *Ветеринария, зоотехника и биотехнология*, 1, 76–84. <https://doi.org/10.36871/vet.zoo.bio.202101010>
42. Dawidowicz, A. L., Typek, R. (2014). Transformation of 5-O-Caffeoylquinic acid in blueberries during high-temperature processing. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 62(545), 10889–10895. <https://doi.org/10.1021/jf503995q>
43. Gao, J., Hu, J., Hu, D., Yang, X. (2019). A role of gallic acid in oxidative damage diseases: A comprehensive review. *Natural Product Communications*, 14(8), Article 1934578X19874174. <https://doi.org/10.1177/1934578X19874174>
44. Celep, A. G. S., Demirkaya, A., Solak, E. K. (2022). Antioxidant and anticancer activities of gallic acid loaded sodium alginate microspheres on colon cancer. *Current Applied Physics*, 40, 30–42. <https://doi.org/10.1016/j.cap.2020.06.002>
45. Zahrani, N. A. A., El-Shishtawy, R. M., Asiri, A. M. (2020). Recent developments of gallic acid derivatives and their hybrids in medicinal chemistry: A review. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 204, Article 112609. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2020.112609>
46. Kahkeshani, N., Farzaei, F., Fotouhi, M., Alavi, S. S., Bahramsoltani, R., Naseri, R. et al. (2019). Pharmacological effects of gallic acid in health and diseases: A mechanistic review. *Iranian Journal of Basic Medical Sciences*, 22(3), Article 225. <https://doi.org/10.22038/ijbms.2019.32806.7897>
47. Habanova, M., Saraiva, J. A., Holovicova, M., Moreira, S. A., Fidalgo, L. G., Haban, M. et al. (2019). Effect of berries/apple mixed juice consumption on the positive modulation of human lipid profile. *Journal of Functional Foods*, 60, 103417. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2019.103417>
48. Yousefian, M., Shakour, N., Hosseinzadeh, H., Hayes, A. W., Hadizadeh, F., Karimi, G. (2019). The natural phenolic compounds as modulators of NADPH oxidases in hypertension. *Phytomedicine*, 55, 200–213. <https://doi.org/10.1016/j.phymed.2018.08.002>
49. Boccellino, M., D'Angelo, S. (2020). Anti-obesity effects of polyphenol intake: Current status and future possibilities. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(16), Article 5642. <https://doi.org/10.3390/ijms21165642>
50. Nani, A., Murtaza, B., Khan, A. S., Khan, N. A., Hichami, A. (2021). Antioxidant and anti-inflammatory potential of polyphenols contained in Mediterranean diet in obesity: Molecular mechanisms. *Molecules*, 26(4), Article 985. <https://doi.org/10.3390/molecules26040985>
51. Singh, M., Thrimawithana, T., Shukla, R., Adhikari, B. (2020). Managing obesity through natural polyphenols: A review. *Future Foods*, 1–2, Article 100002. <https://doi.org/10.1016/j.fufo.2020.100002>
52. Ohishi, T., Fukutomi, R., Shoji, Y., Goto, S., Isemura, M. (2021). The beneficial effects of principal polyphenols from green tea, coffee, wine, and curry on obesity. *Molecules*, 26(2), Article 453. <https://doi.org/10.3390/molecules26020453>
53. Xu, G., Ye, X., Chen, J., Liu, D. (2007). Effect of heat treatment on the phenolic compounds and antioxidant capacity of citrus peel extract. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55(2), 330–335. <https://doi.org/10.1021/jf062517>
54. Kumar, D., Ladaniya, M. S., Gurjar, M., Kumar, S. (2022). Impact of drying methods on natural antioxidants, phenols and flavanones of immature dropped Citrus sinensis L. Osbeck fruits. *Scientific Reports*, 12, Article 6684. <https://doi.org/10.1038/s41598-022-10661-7>
55. Юдина, Р. С., Гордеева, Е. И., Шоева, О. Ю., Тихонова, М. А., Хлесткина, Е. К. (2021). Антоцианы как компоненты функционального питания. *Вавиловский журнал генетики и селекции*, 25(2), 178–189. <https://doi.org/10.18699/VJ21.022>
56. Катасонов, А. Б. (2022). Антоцианы для профилактики и лечения нейродегенеративных заболеваний. *Журнал неврологии и психиатрии им. С. С. Корсакова*, 122(4), 16–22. <https://doi.org/10.17116/jnevro20221204116>
57. Kalt, W., Cassidy, A., Howard, L. R., Krikorian, R., Stull, A. J., Tremblay, F. et al. (2020). Recent research on the health benefits of blueberries and their anthocyanins. *Advances in Nutrition*, 11(2), 224–236. <https://doi.org/10.1093/advances/nmz065>
58. Alam, M. A., Islam, P., Subhan, N., Rahman, M. M., Khan, F., Burrows, G. E. et al. (2021). Potential health benefits of anthocyanins in oxidative stress related disorders. *Phytochemistry Reviews*, 20(4), 705–749. <https://doi.org/10.1007/s11101-021-09757-1>
59. Karaaslan, M., Yilmaz, F. M., Cesur, O., Vardin, H., Ikin, A., Dalgiç, A. C. (2014). Drying kinetics and thermal degradation of phenolic compounds and anthocyanins in pomegranate arils dried under vacuum conditions. *International Journal of Food Science and Technology*, 49(2), 595–605. <https://doi.org/10.1111/ijfs.12342>
60. Ермолаев, В. А. (2020). Подбор температурного режима сублимационного обезвоживания спирулины. *Вестник Международной академии холода*, 1, 84–88. <https://doi.org/10.17586/1606-4313-2020-19-1-84-88>
61. Темирова И. Ж., Оспанкулова Г. Х. (2023). Исследование влияния сублимационной сушки на органолептические показатели и содержание витамина С в ягодах малины. *Вестник Алматинского технологического университета*, 1(3), 57–62. <https://doi.org/10.48184/2304-568X-2023-3-57-62>

## REFERENCES

- Granato, D., Barba, F. J., Bursać Kovačević, D., Lorenzo, J. M., Cruz, A. G., Putnik, P. (2020). Functional foods: Product development, technological trends, efficacy testing, and safety. *Annual Review of Food Science and Technology*, 11, 93–118. <https://doi.org/10.1146/annurev-food-032519-051708>
- Muñoz-Fariña, O., López-Casanova, V., García-Figueroa, O., Roman-Benn, A., Ah-Hen, K., José M. Bastias-Montes, J. M. et al. (2023). Bioaccessibility of phenolic compounds in fresh and dehydrated blueberries (*Vaccinium corymbosum* L.). *Food Chemistry Advances*, 2, Article 100171. <https://doi.org/10.1016/j.focha.2022.100171>
- Nemzer, B., Vargas, L., Xia, X., Sintara, M., Feng, H. (2018). Phytochemical and physical properties of blueberries, tart cherries, strawberries, and cranberries as affected by different drying methods. *Food Chemistry*, 262, 242–250. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.04.047>
- Rudy, S., Dziki, D., Krzykowski, A., Gawlik-Dziki, U., Polak, R., Rozylo, R. et al. (2015). *LWT — Food Science and Technology*, 63(1), 497–503. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2015.03.067>
- Dincer, E. I., Temiz, H. (2023). Investigation of physicochemical, microstructure and antioxidant properties of firethorn (*Pyracantha coccinea* var. *lalandi*) microcapsules produced by spray-dried and freeze-dried methods. *South African Journal of Botany*, 155, 340–354. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2023.02.024>
- Kittibunchakul, S., Temviriyankul, P., Chaikham, P., Kemsawasd, V. (2023). Effects of freeze drying and convective hot-air drying on predominant bioactive compounds, antioxidant potential and safe consumption of maoberry fruits. *LWT*, 184, Article 114992. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2023.114992>
- Alekseenko, E. V., Bystrova, E. A., Semenov, G. V., Chernykh, V. Ya. (2017). Technology of obtaining and evaluation of the quality of freeze dried powder from red whortleberry, *Food Industry*, 11, 70–73. (In Russian)
- Cheng, A.-W., Xie, H.-X., Qi, Y., Liu, C., Guo, X., Sun, J.-Y. et al. (2017). Effects of storage time and temperature on polyphenolic content and qualitative characteristics of freeze-dried and spray-dried bayberry powder. *LWT*, 78, 235–240. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2016.12.027>
- Pap, N., Fidelis, M., Azevedo, L., do Carmo, M. A. V., Wang, D., Mocan, A. et al. (2021). Berry polyphenols and human health: Evidence of antioxidant, anti-inflammatory, microbiota modulation, and cell-protecting effects. *Current Opinion in Food Science*, 42, 167–186. <https://doi.org/10.1016/j.cofs.2021.06.003>
- Zhang, Y., Liu, W., Wei, Z., Yin, B., Man, C., Jiang, Y. (2021). Enhancement of functional characteristics of blueberry juice fermented by *Lactobacillus plantarum*. *LWT*, 139, Article 110590. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.110590>
- Miller, K., Feucht, W., Schmid, M. (2019). Bioactive compounds of strawberry and blueberry and their potential health effects based on human intervention studies: A brief overview. *Nutrients*, 11(7), Article 1510. <https://doi.org/10.3390/nu11071510>
- Pires, T. C. S. P., Caleja, C., Santos-Buelga, C., Barros, L., Ferreira, I. C. F. R. (2020). *Vaccinium myrtillus* L. fruits as a novel source of phenolic compounds with health benefits and industrial applications—a review. *Current Pharmaceutical Design*, 26(16), 1917–1928. <https://doi.org/10.2174/1381612826666200317132507>
- Urbanaviciene, D., Bobinaite, R., Viskelis, P., Bobinas, C., Petruskevicius, A., Klavins, L. et al. (2022). Geographic variability of biologically active compounds, antioxidant activity and physico-chemical properties in wild Bilberries (*Vaccinium myrtillus* L.). *Antioxidants*, 11(5), Article 588. <https://doi.org/10.3390/antiox11030588>
- Karimova, N. Yu., Alekseenko, E. V., Tsvetkova, A. A. (October, 26–27, 2022). Assessment of the effectiveness of using domestic and imported enzyme preparations for processing blueberries in juice production. Proceedings of the 22<sup>nd</sup> International scientific-practical conference. Barnaul: AltSTU, 2022. (In Russian)
- Semenov, G. V., Krasnova, I. S. (2021). Freeze-drying. Moscow: DeLi, 2021. (In Russian)
- Karimova, N. Yu., Alekseenko, E. V., Tsvetkova, A. A., Bakumenko, O. E. (2023). Comparative biochemical characteristics of forest and garden bilberries as a rationale for use as a source of functional ingredients, *Khimiya Rastitel' nogo Syr'ya*, 4, 199–208. <https://doi.org/10.14258/jcprm.20230412171> (In Russian)
- Wang, Y., Fong, S. K., Singh, A. P., Vorsa, N., Johnson-Cicalese, J. (2019). Variation of anthocyanins, proanthocyanidins, flavonols, and organic acids in cultivated and wild diploid blueberry species. *HortScience*, 54(3), 576–585. <https://doi.org/10.21273/HORTSCI13491-18>
- Pires, T. C. S. P., Dias, M. I., Calhella, R. C., Alves, M. J., Santos-Buelga, C., Ferreira, I. C. F. R. et al. (2021). Development of new bilberry (*Vaccinium myrtillus* L.) based snacks: Nutritional, chemical and bioactive features. *Food Chemistry*, 354, Article 127511. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.127511>
- Liu, Q., Tang, G.-Y., Zhao, C.-N., Feng, X.-L., Xu, X.-Y., Cao, S.-Y. et al. (2018). Comparison of antioxidant activities of different grape varieties. *Molecules*, 23(10), Article 2432. <https://doi.org/10.3390/molecules23102432>
- Liu, Q., Tang, G.-Y., Zhao, C.-N., Gan, R.-Y., Li, H.-B. (2019). Antioxidant activities, phenolic profiles, and organic acid contents of fruit vinegars. *Antioxidants*, 8(4), Article 78. <https://doi.org/10.3390/antiox8040078>
- Nikitenko, A. N., Mazyr, A. M., Sinilo, A. A., Klyputenko, M. A. (2023). Investigation of the influence of technological parameters of raw fruit processing on changes in the content of phenolic substances. *Food Industry: Science and Technology*, 16(3), 19–26. (In Russian)
- Aldiyeva, A. B., Khamitova, D. D. (2023). Influence of freeze-drying parameters on the content of polyphenols and anthocyanins in strawberries. *The Journal of Almaty Technological University*, 1(3), 52–56. <https://doi.org/10.48184/2304-568X-2023-3-52-56> (In Russian)
- Petrov, N. A., Sidorova, Yu. S., Perova, I. B., Kochetkova, A. A., Mazo, V. K. (2019). The complex of bilberry polyphenols, sorbed on the buckwheat flour as a functional food ingredient. *Problems of Nutrition*, 88(6), 68–72. <https://doi.org/10.24411/0042-8833-2019-10066> (In Russian)
- Colak, N., Torun, H., Gruz, J., Strnad, M., Hermosín-Gutiérrez, I., Hayirlioglu-Ayaz, S. et al. (2016). Bog bilberry phenolics, antioxidant capacity and nutrient profile. *Food Chemistry*, 201, 339–349. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.01.062>
- Dare, A. P., Günther, C. S., Grey, A. C., Guo, G., Demarais, N. J., Cordiner, S. et al. (2022). Resolving the developmental distribution patterns of polyphenols and related primary metabolites in bilberry (*Vaccinium myrtillus*) fruit. *Food Chemistry*, 374, Article 131703. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.131703>
- Kolarov, R., Tukuljac, M. P., Kolbas, A., Kolbas, N., Barac, G., Ognjanov, V. et al. (2021). Antioxidant capacity of wild-growing bilberry, elderberry, and strawberry fruits. *Acta Horticulturae et Regiotelecturae*, 24(2), 119–126. <https://doi.org/10.2478/ahr-2021-0033>
- Ochmian, I., Figiel-Kroczyńska, M., Lachowicz, S. (2020). The quality of freeze-dried and rehydrated blueberries depending on their size and preparation for freeze-drying. *Acta Universitatis Cibiniensis. Series E: Food Technology*, 24(1), 61–78. <https://doi.org/10.2478/aucef-2020-0006>
- Imani, A., Maleki, N., Bohlouli, S., Kouhsoltani, M., Sharifi, S., Dizaj, S. M. (2021). Molecular mechanisms of anticancer effect of rutin. *Phytotherapy Research*, 35(5), 2500–2513. <https://doi.org/10.1002/ptr.6977>
- Satari, A., Ghasemi, S., Habtemariam, S., Asgharian, S., Lorigooini, Z. (2021). Rutin: A flavonoid as an effective sensitizer for anticancer therapy; insights into multifaceted mechanisms and applicability for combination therapy. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2021, Article 9913179. <https://doi.org/10.1155/2021/9913179>
- Golubev, A. G., Semiglazova, T. Yu., Klyuge, V. A., Kasparov, B. S., Belyaev, A. M., Anisimov, V. N. (2021). Three pandemics at once: Noninfectious (cancer), infectious (COVID-19), and behavioral (hypokinesia). *Voprosy Onkologii*, 67(2), 163–180. <https://doi.org/10.37469/0507-3758-2022-68-6-708-716> (In Russian)
- Trusov N. V., Balakina A. S., Shipelin V. A., Gmshinski I. V., Tutelyan V. A. (2021). Effect of resveratrol, carnitin, quercetin and aromatic amino acids on the xenobiotic metabolising and antioxidant enzymes in the liver during obesity in rats with different genotypes. *Problems of Nutrition*, 90(2(534)), 50–62. <https://doi.org/10.33029/0042-8833-2021-90-2-50-62> (In Russian)
- Bostancieri, N., Elbe, H., Eşrefoğlu, M., Vardi, N. (2022). Cardioprotective potential of melatonin, quercetin and resveratrol in an experimental model of diabetes. *Biotechnic and Histochemistry*, 97(2), 152–157. <https://doi.org/10.1080/10520295.2021.1918766>
- Inchingolo, A. D., Inchingolo, A. M., Malcangi, G., Avantario, P., Azzollini, D., Buongiorno, S. et al. (2022). Effects of resveratrol, curcumin and quercetin supplementation on bone metabolism — A systematic review. *Nutrients*, 14(17), Article 3519. <https://doi.org/10.3390/nu14173519>
- Huang, X.-T., Li, X., Xie, M.-L., Huang, Z., Huang, Y.-X., Wu, G.-X. et al. (2019). Resveratrol: Review on its discovery, anti-leukemia effects and pharmacokinetics. *Chemico-Biological Interactions*, 306, 29–38. <https://doi.org/10.1016/j.cbi.2019.04.001>
- Meng, T., Xiao, D., Muhammed, A., Deng, J., Chen, L., He, J. (2021). Anti-inflammatory action and mechanisms of resveratrol. *Molecules*, 26(1), Article 229. <https://doi.org/10.3390/molecules26010229>
- Bystrova, E. A., Alekseenko, E. V. (2017). The research component composition of phenolic compounds and antioxidant activity of cranberry juice. *Proceedings of Universities. Applied Chemistry and Biotechnology*, 7(3(22)), 19–26. <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2017-7-3-19-26> (In Russian)
- Kusumah, J., de Mejia, E. G. (2022). Coffee constituents with antiadipogenic and anti-diabetic potentials: A narrative review. *Food and Chemical Toxicology*, 161, Article 112821. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2022.112821>
- Singh, A. K., Rana, H. K., Singh, V., Yadav, T. C., Varadwaj, P., Pandey, A. K. (2021). Evaluation of anti-diabetic activity of dietary phenolic compound chlorogenic acid in streptozotocin induced diabetic rats: Molecular docking, molecular dynamics, in silico toxicity, in vitro and in vivo studies. *Computers in Biology and Medicine*, 134, Article 104462. <https://doi.org/10.1016/j.compbiomed.2021.104462>
- Li, H., Zhao, J., Deng, W., Li, K., Liu, H. (2020). Effects of chlorogenic acid-enriched extract from *Eucommia ulmoides* Oliver leaf on growth performance and quality and oxidative status of meat in finishing pigs fed diets containing fresh or oxidized corn oil. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 104(4), 1116–1125. <https://doi.org/10.1111/jpn.13267>
- Zhang, J., Wang, Z., Shi, Y., Xia, L., Hu, Y., Zhong, L. (2023). Protective effects of chlorogenic acid on growth, intestinal inflammation, hepatic antioxidant capacity, muscle development and skin color in channel catfish *Ictalurus punctatus* fed an oxidized fish oil diet. *Fish and Shellfish Immunology*, 134, Article 108511. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2022.108511>
- Azarnova, T. O., Rezvyh, A. M., Maksimov, V. I., Kochish, I. I., Lugovaya, I. S. (2021). Antioxidant properties of ferulic acid and the main results of their implementation in the industrial incubation of turkeys. *Veterinary, Zootechnics and Biotechnology*, 1, 76–84. <https://doi.org/10.36871/vet.zoo.bio.202101010> (In Russian)
- Dawidowicz, A. L., Typek, R. (2014). Transformation of 5-O-Caffeoylquinic acid in blueberries during high-temperature processing. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 62(545), 10889–10895. <https://doi.org/10.1021/jf503993q>
- Gao, J., Hu, J., Hu, D., Yang, X. (2019). A role of gallic acid in oxidative damage diseases: A comprehensive review. *Natural Product Communications*, 14(8), Article 1934578X19874174. <https://doi.org/10.1177/1934578X19874174>
- Celep, A. G. S., Demirkaya, A., Solak, E. K. (2022). Antioxidant and anticancer activities of gallic acid loaded sodium alginate microspheres on colon cancer. *Current Applied Physics*, 40, 30–42. <https://doi.org/10.1016/j.cap.2020.06.002>
- Zahrani, N. A. A., El-Shishtawy, R. M., Asiri, A. M. (2020). Recent developments of gallic acid derivatives and their hybrids in medicinal chemistry: A review. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 204, Article 112609. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2020.112609>
- Kahkeshani, N., Farzaei, F., Fotouhi, M., Alavi, S. S., Bahramsoltani, R., Naseri, R. et al. (2019). Pharmacological effects of gallic acid in health and diseases: A mechanistic review. *Iranian Journal of Basic Medical Sciences*, 22(3), Article 225. <https://doi.org/10.22038/ijbms.2019.32806.7897>
- Habanova, M., Saraiva, J. A., Holovicova, M., Moreira, S. A., Fidalgo, L. G., Haban, M. et al. (2019). Effect of berries/apple mixed juice consumption on the pos-

- itive modulation of human lipid profile. *Journal of Functional Foods*, 60, 103417. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2019.103417>
48. Yousefian, M., Shakour, N., Hosseinzadeh, H., Hayes, A. W., Hadizadeh, F., Karimi, G. (2019). The natural phenolic compounds as modulators of NADPH oxidases in hypertension. *Phytomedicine*, 55, 200–213. <https://doi.org/10.1016/j.phymed.2018.08.002>
49. Boccellino, M., D'Angelo, S. (2020). Anti-obesity effects of polyphenol intake: Current status and future possibilities. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(16), Article 5642. <https://doi.org/10.3390/ijms21165642>
50. Nani, A., Murtaza, B., Khan, A. S., Khan, N. A., Hichami, A. (2021). Antioxidant and anti-inflammatory potential of polyphenols contained in Mediterranean diet in obesity: Molecular mechanisms. *Molecules*, 26(4), Article 985. <https://doi.org/10.3390/molecules26040985>
51. Singh, M., Thrimawithana, T., Shukla, R., Adhikari, B. (2020). Managing obesity through natural polyphenols: A review. *Future Foods*, 1–2, Article 100002. <https://doi.org/10.1016/j.fufo.2020.100002>
52. Ohishi, T., Fukutomi, R., Shoji, Y., Goto, S., Isemura, M. (2021). The beneficial effects of principal polyphenols from green tea, coffee, wine, and curry on obesity. *Molecules*, 26(2), Article 453. <https://doi.org/10.3390/molecules26020453>
53. Xu, G., Ye, X., Chen, J., Liu, D. (2007). Effect of heat treatment on the phenolic compounds and antioxidant capacity of citrus peel extract. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55(2), 330–335. <https://doi.org/10.1021/jf062517>
54. Kumar, D., Ladaniya, M. S., Gurjar, M., Kumar, S. (2022). Impact of drying methods on natural antioxidants, phenols and flavanones of immature dropped Citrus sinensis L. Osbeck fruits. *Scientific Reports*, 12, Article 6684. <https://doi.org/10.1038/s41598-022-10661-7>
55. Yudina, R. S., Gordeeva, E. I., Shoeva, O. Y., Tikhonova, M. A., Khlestkina, E. K. (2021). Anthocyanins as functional food components. *Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Selekcii = Vavilov Journal of Genetics and Breeding*, 25(2), 178–189. <https://doi.org/10.18699/VJ21.022> (In Russian)
56. Katasonov, A. B. (2022). Anthocyanins for the prevention and treatment of neurodegenerative diseases. *S. S. Korsakov Journal of Neurology and Psychiatry*, 122(4), 16–22. <https://doi.org/10.17116/jnevro202212204116> (In Russian)
57. Kalt, W., Cassidy, A., Howard, L. R., Krikorian, R., Stull, A. J., Tremblay, F. et al. (2020). Recent research on the health benefits of blueberries and their anthocyanins. *Advances in Nutrition*, 11(2), 224–236. <https://doi.org/10.1093/advances/nmz065>
58. Alam, M. A., Islam, P., Subhan, N., Rahman, M. M., Khan, F., Burrows, G. E. et al. (2021). Potential health benefits of anthocyanins in oxidative stress related disorders. *Phytochemistry Reviews*, 20(4), 705–749. <https://doi.org/10.1007/s11101-021-09757-1>
59. Karaaslan, M., Yilmaz, F. M., Cesur, O., Vardin, H., Ikin, A., Dalgiç, A. C. (2014). Drying kinetics and thermal degradation of phenolic compounds and anthocyanins in pomegranate arils dried under vacuum conditions. *International Journal of Food Science and Technology*, 49(2), 595–605. <https://doi.org/10.1111/ijfs.12342>
60. Ermolaev, V. A. (2020). Selection of the temperature regime for freeze-drying spirulina. *Journal of International Academy of Refrigeration*, 1, 84–88. <https://doi.org/10.17586/1606-4313-2020-19-1-84-88> (In Russian)
61. Temirova, I. Zh., Ospankulova, G. Kh. (2023). Determination of organoleptic indicators and vitamin c content in freeze-dried raspberry. *The Journal of Almaty Technological University*, 1(3), 57–62. <https://doi.org/10.48184/2304-568X-2023-3-57-62> (In Russian)

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ	AUTHOR INFORMATION
Принадлежность к организации	Affiliation
<p><b>Алексеенко Елена Викторовна</b> — доктор технических наук, профессор, кафедра биотехнологии и технологии продуктов биоорганического синтеза, Российский биотехнологический университет 125080, Москва, Волоколамское шоссе, 11 Тел.: +7-499-750-01-11 E-mail: <a href="mailto:AlekseenkoEV@mgupp.ru">AlekseenkoEV@mgupp.ru</a> ORCID: <a href="http://orcid.org/0000-0001-6208-0999">http://orcid.org/0000-0001-6208-0999</a></p>	<p><b>Elena V. Alekseenko</b>, Doctor of Technical Sciences, Professor, Department of Biotechnology and Technology of Bioorganic Synthesis Products, Russian Biotechnological University 11, Volokolamskoe highway, 125080 Moscow, Russia Tel.: +7-499-750-01-11 E-mail: <a href="mailto:AlekseenkoEV@mgupp.ru">AlekseenkoEV@mgupp.ru</a> ORCID: <a href="http://orcid.org/0000-0001-6208-0999">http://orcid.org/0000-0001-6208-0999</a></p>
<p><b>Каримова Наталья Юрьевна</b> — аспирант, начальник испытательного лабораторного центра, инжиниринговый центр «Передовые пищевые технологии и безопасность продуктов питания», Российский биотехнологический университет 125080, Москва, Волоколамское шоссе, 11 Тел.: +7-499-750-01-11 E-mail: <a href="mailto:karimovanyu@mgupp.ru">karimovanyu@mgupp.ru</a> ORCID: <a href="http://orcid.org/0000-0002-3848-1482">http://orcid.org/0000-0002-3848-1482</a> * автор для контактов</p>	<p><b>Natalya Yu. Karimova</b>, Postgraduate Student, Head of the Testing Laboratory Center, Engineering Center “Advanced Food Technologies and Food Safety”, Russian Biotechnological University 11, Volokolamskoe highway, 125080 Moscow, Russia Tel.: +7-234-567-89-00 E-mail: <a href="mailto:karimovanyu@mgupp.ru">karimovanyu@mgupp.ru</a> ORCID: <a href="http://orcid.org/0000-0002-3848-1482">http://orcid.org/0000-0002-3848-1482</a> * corresponding author</p>
<p><b>Семенов Геннадий Вячеславович</b> — доктор технических наук, профессор, старший научный сотрудник, лаборатория композитных материалов, ЦКП «Перспективные упаковочные решения и технологии рециклинга», Российский биотехнологический университет 125080, Москва, Волоколамское шоссе, 11 Тел.: +7-499-750-01-11 E-mail: <a href="mailto:sgv47@yandex.ru">sgv47@yandex.ru</a> ORCID: <a href="http://orcid.org/0000-0003-2320-9985">http://orcid.org/0000-0003-2320-9985</a></p>	<p><b>Gennadiy V. Semenov</b>, Doctor of Technical Sciences, Professor, Senior Researcher, Laboratory of Composite Materials, Center for Collective Use “Advanced Packaging Solutions and Recycling Technologies”, Russian Biotechnological University 11, Volokolamskoe highway, 125080 Moscow, Russia Tel.: +7-499-750-01-11 E-mail: <a href="mailto:sgv47@yandex.ru">sgv47@yandex.ru</a> ORCID: <a href="http://orcid.org/0000-0003-2320-9985">http://orcid.org/0000-0003-2320-9985</a></p>
<p><b>Краснова Ирина Станиславовна</b> — кандидат технических наук, старший научный сотрудник лаборатории композитных материалов, ЦКП «Перспективные упаковочные решения и технологии рециклинга», Российский биотехнологический университет 125080, Москва, Волоколамское шоссе, 11 Тел.: +7-499-750-01-11 E-mail: <a href="mailto:ira3891@mail.ru">ira3891@mail.ru</a> ORCID: <a href="http://orcid.org/0000-0002-6658-0373">http://orcid.org/0000-0002-6658-0373</a></p>	<p><b>Irina S. Krasnova</b>, Candidate of Technical Sciences, Senior Researcher, Laboratory of Composite Materials, Center for Collective Use “Advanced Packaging Solutions and Recycling Technologies”, Russian Biotechnological University 11, Volokolamskoe highway, 125080 Moscow, Russia Tel.: +7-499-750-01-11 E-mail: <a href="mailto:ira3891@mail.ru">ira3891@mail.ru</a> ORCID: <a href="http://orcid.org/0000-0002-6658-0373">http://orcid.org/0000-0002-6658-0373</a></p>
<p><b>Бакуменко Олеся Евгеньевна</b> — доктор технических наук, доцент, профессор, кафедра конструирования функциональных продуктов питания и нутрициологии, Российский биотехнологический университет 125080, Москва, Волоколамское шоссе, 11 Тел.: +7-499-750-01-11 E-mail: <a href="mailto:oebakumenko@mgupp.ru">oebakumenko@mgupp.ru</a> ORCID: <a href="http://orcid.org/0000-0001-9532-6131">http://orcid.org/0000-0001-9532-6131</a></p>	<p><b>Olesya E. Bakumenko</b>, Doctor of Technical Sciences, Professor, Docent, Professor, Department of Functional Design Food and Nutritional Science, Russian Biotechnological University 11, Volokolamskoe highway, 125080 Moscow, Russia Tel.: +7-499-750-01-11 E-mail: <a href="mailto:oebakumenko@mgupp.ru">oebakumenko@mgupp.ru</a> ORCID: <a href="http://orcid.org/0000-0001-9532-6131">http://orcid.org/0000-0001-9532-6131</a></p>
<p><b>Критерии авторства</b></p> <p>Авторы в равных долях имеют отношение к написанию рукописи и одинаково несут ответственность за плагиат.</p>	<p><b>Contribution</b></p> <p>Authors equally relevant to the writing of the manuscript, and equally responsible for plagiarism.</p>
<p><b>Конфликт интересов</b></p> <p>Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.</p>	<p><b>Conflict of interest</b></p> <p>The authors declare no conflict of interest.</p>

DOI: <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2024-7-1-125-136>

Поступила 07.02.2024

Поступила после рецензирования 20.03.2024

Принята в печать 25.03.2024

© Полищук Е. К., Котенкова Е. А., 2024

<https://www.fsjour.com/jour>

Научная статья

Open access

# ПРОГНОЗИРОВАНИЕ ДЕЙСТВИЯ ЭНЗИМОВ ДЛЯ ИЗВЛЕЧЕНИЯ ВЕЩЕСТВ С АНТИМИКРОБНОЙ НАПРАВЛЕННОСТЬЮ ДЕЙСТВИЯ ИЗ ОРГАНИЗМОВ *SUS SCROFA* И *BOS TAURUS*

Полищук Е. К.,\* Котенкова Е. А.

Федеральный научный центр пищевых систем им. В. М. Горбатова, Москва, Россия

## КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: АННОТАЦИЯ

антимикробные пептиды, трипсин, эластаза, коллагеназа, сайт расщепления, препропептид, биоинформатический анализ

Изучение антимикробных соединений животного происхождения, в частности антимикробных пептидов (АМП), является актуальной темой исследований в последнее время. Тем не менее извлечение эндогенных АМП является затруднительным процессом и требует применения принципов направленной энзиматической обработки на основе знаний о строении препропептидных молекул — предшественников АМП. В данной работе был проведен поиск присутствующих в организмах *Sus scrofa* и *Bos taurus* антимикробных пептидов, а также их предшественников с помощью баз данных The Antimicrobial Peptide Database и UniProtKB. В аминокислотных последовательностях препропептидов находили последовательность зрелого пептида и определяли сайты расщепления для трипсина, бактериальной коллагеназы (тип I) и нейтрофильной эластазы. По итогам поиска антимикробных соединений в базе данных The Antimicrobial Peptide Database было выявлено 18 антимикробных пептидов *Sus scrofa* и 40 антимикробных пептидов *Bos taurus*. Согласно результатам определения сайтов расщепления в предшественниках АМП, энзимы были распределены от менее предпочтительного к более предпочтительному для высвобождения АМП следующим образом: бактериальная коллагеназа (тип I) < трипсин < нейтрофильная эластаза. Такой порядок обоснован не только количеством подходящих сайтов расщепления и их точностью, но и действием ферментов внутри зрелых АМП: важно учитывать, что энзимы могут «разрезать» сами пептиды, снижая тем самым их антимикробную активность. Проведенный биоинформатический анализ применим как для осуществления первичного скрининга потенциала сырья, так и для определения подходящих энзимов с целью извлечения антимикробных соединений из организмов *Sus scrofa* и *Bos taurus*.

ФИНАНСИРОВАНИЕ: Исследование выполнено в рамках темы НИР FGUS-2024–0003 государственного задания ФГБНУ «ФНЦ пищевых систем им. В. М. Горбатова» РАН.

Received 07.02.2024

Accepted in revised 20.03.2024

Accepted for publication 25.03.2024

© Polishchuk E. K., Kotenkova E. A., 2024

Available online at <https://www.fsjour.com/jour>

Original scientific article

Open access

## PREDICTION OF ENZYME ACTION FOR EXTRACTION OF ANTIMICROBIAL SUBSTANCES FROM *SUS SCROFA* AND *BOS TAURUS*

Ekaterina K. Polishchuk,\* Elena A. Kotenkova

V. M. Gorbatov Federal Research Center for Food Systems, Moscow, Russia

## KEY WORDS:

antimicrobial peptides, trypsin, elastase, collagenase, cleavage site, prepropeptide, bioinformatic analysis

## ABSTRACT

The study of antimicrobial compounds of animal origin, particularly antimicrobial peptides (AMPs), is a current research topic. However, extracting endogenous AMPs is a challenging process and requires the application of targeted enzymatic processing principles based on knowledge of the structure of prepropeptide molecules — precursors of AMPs. In this study, a search was conducted for antimicrobial peptides present in *Sus scrofa* and *Bos taurus* organisms, as well as their precursors, using The Antimicrobial Peptide Database and UniProtKB databases. In the amino acid sequences of prepropeptides, the sequences of the mature peptides were found, and cleavage sites for trypsin, bacterial collagenase (type I), and neutrophil elastase were determined. As a result of the search for antimicrobial compounds in The Antimicrobial Peptide Database, 18 antimicrobial peptides from *Sus scrofa* and 40 antimicrobial peptides from *Bos taurus* were identified. Based on the results of determining cleavage sites in AMP precursors, enzymes were ranked from less preferred to more preferred for AMP release as follows: bacterial collagenase (type I) < trypsin < neutrophil elastase. This order is justified not only by the number of suitable cleavage sites and their accuracy but also by the action of enzymes within mature AMPs: it is important to consider that enzymes can “cut” the peptides themselves, thereby reducing their antimicrobial activity. The bioinformatics analysis conducted is applicable for both primary screening of raw material potential and determining of suitable enzymes for extracting antimicrobial compounds from *Sus scrofa* and *Bos taurus* organisms.

FUNDING: The article was published as part of the research topic No. FGUS-2024–0003 of the state assignment of the V. M. Gorbatov Federal Research Center for Food Systems of RAS.

## 1. Введение

История открытия веществ с противомикробными свойствами берет начало со второй половины XIX века, когда было обнаружено, что микроорганизмы ответственны за различные инфекционные заболевания, преследовавшие человечество с давних времен [1]. Первым противомикробным агентом в мире был сальварсан, средство от сифилиса, синтезированное в 1910 г. Эрлихом [2]. В 1935 г. Домагком и другими исследователями были разработаны сульфаниламиды. Эти препараты были синтетическими соединениями и имели ограниче-

ния с точки зрения безопасности и эффективности. В 1928 году Флеминг обнаружил, что рост *Staphylococcus aureus* подавляется в зоне, окружающей синюю плесень (гриб из рода *Penicillium*) в зараженных ей культуральных чашках, что привело к открытию антибиотиков, ингибирующих рост других микроорганизмов [1]. Антибиотик, названный пенициллином, начал применяться в клинической практике в 1940-х годах и возглавил эру антимикробной терапии, спасая жизни раненых во время Второй мировой войны. В течение последующих двух десятилетий один за другим разрабатывались новые

ДЛЯ ЦИТИРОВАНИЯ: Полищук Е. К., Котенкова Е. А. (2024). Прогнозирование действия энзимов для извлечения веществ с антимикробной направленностью действия из организмов *Sus scrofa* и *Bos taurus*. *Пищевые системы*, 7(1), 125–136. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2024-7-1-125-136>

FOR CITATION: Polishchuk, E. K., Kotenkova, E. A. (2024). Prediction of enzyme action for extraction of antimicrobial substances from *Sus scrofa* and *Bos taurus*. *Food Systems*, 7(1), 125–136. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2024-7-1-125-136>

классы противомикробных препаратов, однако вскоре стало ясно, что микроорганизмы обладают способностью приобретать устойчивость к антимикробным агентам антибиотической природы. В связи с возросшей резистентностью микроорганизмов антимикробные вещества, ранее эффективные, больше не применяются или подвергаются модификациям. Ученые постоянно ведут поиски новых агентов с антимикробной направленностью действия, считая ключевыми критериями их отбора эффективность и безопасность, а также учитывая время и возможность возникновения резистентности к действующему веществу у микроорганизмов. Большой интерес у исследователей вызывают антимикробные пептиды (АМП), которые представляют собой небольшие поликатионные пептиды и являются основными факторами противомикробной защиты врожденного иммунитета множества живых организмов [3]. Основной механизм действия АМП заключается в нарушении целостности бактериальных клеточных мембран, также они участвуют в стимуляции иммунного ответа и в регуляции воспалительных процессов [4]. Было выявлено, что АМП ограничивают развитие устойчивости бактерий, по сравнению с другими антимикробными соединениями [4,5], что является большим преимуществом и позволяет рассматривать антимикробные пептиды как альтернативу традиционным антибиотикам.

Согласно анализу публикационной активности в базе данных Google Scholar, по запросу «antimicrobial peptide» за последние десять лет было опубликовано свыше 92 000 работ, а с начала 2023 года это число достигло более 17 700 публикаций. Коллективными усилиями многих исследователей на основе освоенных знаний в области антимикробных пептидов в 2003 году была разработана база данных The Antimicrobial Peptide Database [6]. К настоящему времени в ней насчитывается 3425 антимикробных пептида из шести царств: 385 бактериоцинов/пептидных антибиотиков — из бактерий, 5 — из архей, 8 — из протистов, 25 — из грибов, 368 — из растений и 2 489 — из животных, включая некоторые синтетические пептиды [6]. К 2024 году количество ресурсов, содержащих информацию об антимикробных пептидах различного происхождения, существенно возросло и составляет более 25 баз данных [7]. В настоящее время число ученых, исследующих антимикробные пептиды, довольно велико, как и диапазон объектов исследований.

Классифицировать АМП можно по многим признакам: по направленности действия (антибактериальные, инсектицидные, противогрибковые, противовирусные АМП), по физико-химическим свойствам (нейтральные, анионные, катионные), по размеру (крупные (50–100 аминокислотных остатков — а. о.), малые (10–24 а. о.), средние (25–50 а. о.) и т. д. [8]. Стоит отметить, что большинство изученных антимикробных пептидов млекопитающих являются компонентом врожденного иммунитета и были выделены из нейтрофильных гранулоцитов. В основном они синтезируются в виде предшественников — препептидных молекул, состоящих из N-концевой сигнальной последовательности (которая способствует нацеливанию на эндоплазматический ретикулум), просегмента и C-концевого катионного пептида. Последний, в свою очередь, демонстрирует антимикробную активность после отщепления от остальной части молекулы [8,9,10] посредством посттрансляционных модификаций. Препептид удерживает C-концевой пептид в неактивной форме до его дальнейшей обработки и подготовки к высвобождению, когда это необходимо.

Следует учитывать, что АМП могут быть токсичными для некоторых клеток и нормальной микрофлоры организма-хозяина при определенных условиях. Это говорит о том, что иммунитет организма-хозяина должен поддерживать тонкий баланс: АМП должны быть достаточно мощными, чтобы быстро ингибировать патогенные микроорганизмы, но не настолько, чтобы нарушать баланс микробиоты или повреждать ткани организма-хозяина [11]. По-видимому, именно это условие обеспечивает надежную «упаковку» пептида и нейтрализацию его активности до сигнала об «атаке» патогеном. Из-за потенциально вредного воздействия зрелых АМП на клеточные мембраны млекопитающих процессинг многих АМП также регулируется путем их хранения в секреторных гранулах [12].

Несмотря на актуальность изучения антимикробных пептидов в настоящее время, большей популярностью пользуются синтезы recombinantных АМП с известной или биоинформатически вычисленной последовательностью, предназначенные для дальнейшего использования в качестве фармпрепаратов, пестицидов, пищевых консервантов и т. д. [13]. Данные технологии достаточно востребованы, хорошо воспроизводимы в отношении многих бактериоцинов, но имеют некоторые сложности при воспроизведении в отношении АМП млекопитающих, что обусловлено различиями между прокариотами и эукариотами. Анализ научных публикаций показал, что мно-

гие ученые озадачены вопросами поиска новых АМП, но лишь некоторые заинтересованы вопросами эффективного извлечения АМП из растительного сырья [14], насекомых [15], беспозвоночных [16].

Извлечение эндогенных антимикробных пептидов из эукариотических организмов посредством биотехнологических приемов представляет собой затруднительную задачу, которая требует решения. Стоит отметить, что принципы «направленной» энзиматической обработки для интенсификации извлечения АМП являются сложной и малоизученной областью исследований, однако довольно перспективной. В связи с этим целью настоящего исследования было прогнозирование действия энзимов для направленного извлечения антимикробных соединений на базе знаний о структуре их предшественников из организмов *Sus scrofa* и *Bos taurus*.

## 2. Объекты и методы

Поиск аминокислотных (АК) последовательностей зрелых антимикробных соединений в организмах *Sus scrofa* и *Bos taurus* осуществлялся с использованием базы данных The Antimicrobial Peptide Database [6]. Для этого переходили во вкладку AMP Database Search и в графе Source Organism указывали *Sus scrofa/Bos taurus*. На странице каждого обнаруженного пептида копировали ID-номер пептида из графы SwissProt ID, который вставляли в строку поиска базы данных UniProtKB [17] для поиска АК-последовательности предшественника данного пептида. В случае, если ID-номер пептида в графе SwissProt не был указан, применялся инструмент Peptide Search (<https://www.uniprot.org/peptide-search>), позволяющий найти предшественник искомого АМП по аминокислотной последовательности последнего с учетом таксономии.

В качестве энзимов, расщепляющих аминокислотные последовательности препептидных молекул, рассматривали трипсин, бактериальную коллагеназу (тип I) и нейтрофильную эластазу, предпочтительные сайты расщепления для которых определяли посредством литературного поиска. В АК-последовательностях препептидов находили последовательность зрелого пептида и выявляли сайты расщепления для каждого из энзимов. Для оценки среднего процентного содержания АК-остатков в АМП, которые должны присутствовать в сайтах расщепления в соответствии с литературными данными о протейолитическом действии отобранных энзимов, после определения списка АК-последовательностей зрелых антимикробных соединений для *Sus scrofa* и *Bos taurus* в базе данных The Antimicrobial Peptide Database [6] внизу списка переходили во вкладку Select all and see sequence statistical data.

## 3. Результаты и обсуждение

По итогам поиска антимикробных соединений в базе данных The Antimicrobial Peptide Database [6] было выявлено 18 антимикробных пептидов *Sus scrofa* и 40 антимикробных пептидов *Bos taurus*. Результаты определения сайтов расщепления в препептидных предшественниках АМП для трипсина, эластазы и коллагеназы представлены в Таблицах 1, 2 и 3 соответственно.

Трипсин представляет собой сериновую протеазу, вырабатываемую поджелудочной железой. Этот фермент преимущественно гидролизует связи аминокислотных остатков лизина и аргинина (Arg (R) -|- Xaa (нейтральная аминокислота), Lys (K) -|- Xaa) на C-концевой стороне белка (Рисунок 1) [18,19,20].

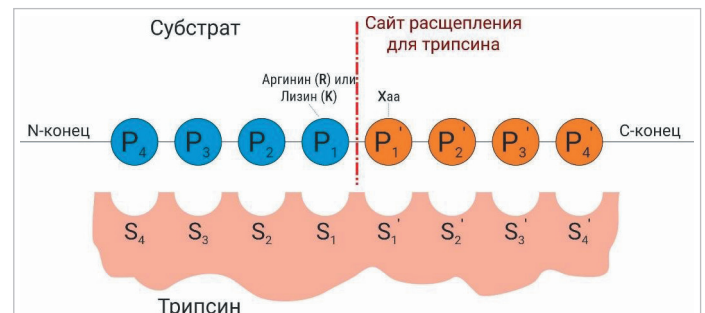


Рисунок 1. Предпочтительный сайт расщепления для трипсина

Figure 1. Preferred cleavage site for trypsin

Примечание: сайты узнавания субстрата пронумерованы  $S_1-S_n$  в направлении N-конца субстрата и  $S_1'-S_n'$  в направлении C-конца. Аминокислотные остатки субстрата пронумерованы  $P_1-P_n$  и  $P_1'-P_n'$  соответственно. Нумерация начинается с разрезаемой связи.

Note: The substrate binding sites downstream of the cleavage site are numbered  $S_1-S_n$  towards the N-terminus of the substrate and  $S_1'-S_n'$  towards the C-terminus. The substrate residues are numbered  $P_1-P_n$  and  $P_1'-P_n'$  respectively. The numbering starts at the scissile bond.





№	Название зрелого АМП	Сайты расщепления
6.	Бета-дефенсин 2	MRLHLLLLAL LFLVLSAGSG FTQGVNRNHTV CRINRGFCVP IRCPGRTRQI GTCFGRPRKIC CRSW
7.	Бета-дефенсин 3	LALLFLVLSA GSGFTQGVNRN HVTICRINRGF CVPIRCPGRT RQIGTCFGRPR IKCCRSW
8.	Бета-дефенсин 4	MRLHLLLLAV LFLVLSAGSG FTQGVNRNPQS CRWNMGVCIP FLCRVGMRQI GTCFGRPRVPC CRR
9.	Бета-дефенсин 5	MRLHLLLLVL LFLVLSAGSG FTQGVNRNPQS CRWNMGVCIP ISCPGNMRQI GTCFGRPRVPC CRRW
10.	Бета-дефенсин-6	QGVNRNHTVCR IYGGFCVPIR CPGTRTQIGT CFGRPVKCCR RW
11.	Бета-дефенсин 7	MRLHLLLLAL LFLVLSAGSG FTQGVNRFVT CRINRGFCVP IRCPGHRRQI GTCLGPRIKIC CR
12.	Бета-дефенсин 8	MRLHLLLLAL LFLVLSAGSG FTQGVNRFVT CRINRGFCVP IRCPGHRRQI GTCLGPQIKIC CR
13.	Бета-дефенсин 9	LALLFLVLSA GSGFTQGVNRN FVTCRINRGF CVPIRCPGHR RQIGTCLAPQ IKCCR
14.	Бета-дефенсин 10	MRLHLLLLLL LLVVLSSGSG FTQGVRSYLS CWGNRGICLL NRCPGRMQRQI GTCLAPRVKIC CR
15.	Бета-дефенсин 11	MRLHLLLLAL LFLVLSAGSG ISGPLSCRRN GGVCPIRCP GPMRQIGTFC GRPVKCCR SW
16.	Бета-дефенсин 12	MRLHLLLLAL LFLVLSAASG ISGPLSCRRN GGVCPIRCP VPMRQIGTFC GRPVKCCR SW
17.	Бета-дефенсин 13	MRLHLLLLAL LFLVLSAASG ISGPLSCRRN GGVCPIRCP VPMRQIGTFC GRPVKCCR SW
18.	Индолицидин	MQTQRASLSL GRWSLWLLL GLVVPASAQ ALSYREAVLR AVDQNLNLS EANLYRLEL DPPPKDNEDL GTRKPVSFV KETVCPRTIQ QPAEQCDFKE KGRVKQCVGT VTLDPSNDQF DLNCLNLSV ILPWKVPWWP WRRG
19.	Семиналплазмин	MMAGRRSWPA MATVLLALLV CLGELVDSK QPSDEKASPD KHHRFSLRY AKLANRLANP KLETFLSKW IGDGRNRSVK
20.	Антимикробный пептид трахеи	MRLHLLLLAL LFLVLSAASG FTQGVGNPVS CVRNKGCVP IRCPGSMKQI GTCVGRAVKC CRKK
21.	ВМАР-27	METQRASLSL GRWSLWLLL GLALPSASAQ ALSYREAVLR AVDQFNERS EANLYRLEL DPPPKEDDEN PNIPKPVSFV VKETVCPRTS QPAEQCDFK ENGLVKQCVG TVTLDAVKGK INVTCLELQS VGRFRFRFKK FKFLFKLSP VIPLLLHG
22.	ВМАР-28	METQRASLSL GRWSLWLLL GLALPSASAQ ALSYREAVLR AVDQFNERS EANLYRLEL DPPPKEDDEN PNIPKPVSFV VKETVCPRTS QSPQEQCDFK ENGLKCVG TVTLDVQSN FIDITCAVPQS VGLRSLGRK ILRAWKKYGP IIVPIIRIG
23.	ВМАР-34	METQRASFSL GRSSLWLLL GLVVPASAQ DLSYREAVLR AVDQFNERS EANLYRLEL DPPPEQDVEH PGARKPVSFV VKETVCPRTT PQPPEQCDFK ENGLVKQCVG TVTRYWIRGD FIDITCNIS AGLFRRLRDS IRRQOKILE KARRIGERIK DIFRG
24.	Лингвальный антимикробный пептид	MRLHLLLLAL LFLVLSAGSG FTQGVNRNSQS CRRNKGICVP IRCPGSMRQI GTCLGAQVKC CRKK
25.	Хромбацин	AAEFDPFDYDSEEQMGPHQEADEKDRADQVRLTEEEKKLELENLAAMDLELQKIAEKFSQR
26.	Энкелитин	MARFLGLCTW LLALGPGLLA TVRAECSQDC ATCSYRLARP TDLNPLACTL ECEGLPSLK TWETCKELLO LTKLELPPDA TSALSQKEES HLLAKKYGGF MKRYGGFMKK MDELYPLEVE EEANGGEVLG KRYGGFMKKD AEEDDLGNS SNLLKELLGA GDQREGSLHQ EGSDAEDVSK RYGGFMRLGL RSPHLEDK ELQKRYGGFM RRVGRPEWWM DYQKRYGGFL KRFAEPLPSE EEGESYSKEV PEMEKRYGGF MRF
27.	ТАР 20N	NPVSCVRNKGICVPIRCPGNMKQIGTCVGRAVKCCRKK
28.	Секретолитин	MQPAALLGLL GATVVAAVSS MPVDIRNHNE EVVTHCIEV LSNALLKSSA PPITPECRQV LKKNKELKN EEKSENENTR FEVRLLRDPA DTSEAPGLSS REDSGEGDAQ VPTVADTESG GHSRERAGEP PGSQVAKEAK TRYKSEKQON REEEMVKYQK RERGEVGGSE RLSEGGPKAQ TAFLNQRNQT PAKKEELVSR YDQTSARGLE KSHSRERSQ ESGETKQSE NWPQELQRHP EGQEAAPGESE EDASPEVDKR HSRPRHHHGR SRPDRSSQEG NPPLEESHV GTGNSDEEKA RHPAHFRALE EGAEYGEVNR RLSAAQAPGD LQGARFGGRG RGEHQALRRP SEESLEQENK RHGLSPDLNM AQGYSESEE ERGPAPGPSY RARGGAAAY STLQQTDEKR FLGETHHRVQ ESQRDKARRR LPGELRNYLD YGEEKGEEAA RGKWPQPGDP RDADENREEA RLKRGQYAPH HITEKRLGEL LNPFDYDPSQW KSRFRERKDP MDDSFLEGE ENGLTLNEKN FPEYNYDWW EKCPFEEDVN WGYEKRNPVP KLDLKRQYDR VAELDQLLHY RKKSAEFPDF YDSEEQMSQP HTAENEEKA GQGVLTTEE KLELENLAAMD LELQKIAEKFSGTRRG
29.	Хромацин	MRSAAVLALL LCAGQVIALP VNPMNKGDV EVMKCIVEVI SDTSLKSPM PVSKECFETL RGDERILSIL RHQNLKELQ DLALQGAKEK THQKKHSSY EDELSEVLEK PNDQAEKPEV TEEVSSKDAE EKRDDFKEVE KSDESDGDR PQASPLGPG PKVEEDNQAP GEEEAAPSNA HPLASLSPK YPGQAKEDS EGSPQGPASR EKGLSAEQGR QTEREEEEK WEEAEAREKA VPEESPTTA AFKPPPSLGN KETQRAAPGW PEDGAGKMG EAAPPEKGG EWAHRSQEEE EMARAPQVLF RGGKSGEPEQ EEQLSKEWED AKRWSKMDQL AKELTAEKRL EGEEEEEEDP DRSMRISFRA RGYGRFGPL QLRRGWRPNS REDSVEAGLP LQVRGYPEEK KEEEGSANRR PEDQELSELS AIEAELEKVA HQLEELRRG
30.	Вазостатин-1	MRSAAVLALL LCAGQVIALP VNPMNKGDV EVMKCIVEVI SDTSLKSPM PVSKECFETL RGDERILSIL RHQNLKELQ DLALQGAKEK THQKKHSSY EDELSEVLEK PNDQAEKPEV TEEVSSKDAE EKRDDFKEVE KSDESDGDR PQASPLGPG PKVEEDNQAP GEEEAAPSNA HPLASLSPK YPGQAKEDS EGSPQGPASR EKGLSAEQGR QTEREEEEK WEEAEAREKA VPEESPTTA AFKPPPSLGN KETQRAAPGW PEDGAGKMG EAAPPEKGG EWAHRSQEEE EMARAPQVLF RGGKSGEPEQ EEQLSKEWED AKRWSKMDQL AKELTAEKRL EGEEEEEEDP DRSMRISFRA RGYGRFGPL QLRRGWRPNS REDSVEAGLP LQVRGYPEEK KEEEGSANRR PEDQELSELS AIEAELEKVA HQLEELRRG
31.	Говяжий ингибитор трипсина из поджелудочной железы	MKMSRLCLSV ALLVLLGTLA ASTPGCDTSN QAKAQRPDFC LEPPYTGPCK ARIIRYFYNA KAGLCQTFVY GGCRAKRNNF KSAEDCMRTC GGAIGPWENL
32.	Казоцидин-2	MKFFIFTCLLAVALAKNTMEHVSSEESIHSQETKQKKNMAINPSKENLCTFCKEVVRNANEYYSIGSSEESAEVATEEVKITVD DKHYQKALNEINQFYQKFPQYLQYLYQGPVLPNPDQVVRNANAVITPTLNREQLSTSEENSCKTVDMESTEVTFKTKLITEEKNR LNFLKKSISQRYQKALPQYKLTVYQHOKAMKPIWQPKTKVIPYVRYL
33.	Буфорин-1 (гистон H2A)	AGRGGKQGGKV RAKAKTRSSR AGLQFPVGRV HRLLRKGNV
34.	Гистон H2B	MPEPSKSAPA PKKCSKKAVT KAQRKDGKRR KRSRKEYSV VYKVLKQVH PDTGISSKAM GNMNSFVNDI FERIAEASR LAHYNKRSTI TSREIQTAVR LLLPGELAKH AVSEGTKAVT KYTSSK
35.	Гистон H3	MARTKQTARK STGGKAPRKQ LATKAARKSA PATGGVKKPH RYRPGTVALR IIRRYQKSTE LLIRKLPFOR LVREIAQDFK TDLRFQSSAV MALQEAACEAY LVGLFEDTNL CAIHAQRVTI MPKDIQLARR IRGERA
36.	Гистон H4	MSRGGKGGKGLGKGAKRHRKVLDRNIQGITKPAIRRLARRGGVKKRISGLIYEETRGVLFIFLENVIRDAVITYTEHARRKVTAMDV VYALKROGRTYLGFGG
37.	P3 (остатки гемоглобина 97-114)	MVLSAADKGNVKA AWGKVGGHAAEYGAALERMFLSFPPTKT YFPHFDLSHGSAQVKGHGAKVAAALTKAVEHLLDPLGALSEL SDLHAHKLRVDPVNFKLLSHSLVTLASHLPSDFTPAVHASLDKFLANVSTVLTSKYR
38.	Говяжий бета-казеин	MKVLILACLVALALARELEELNVPGEIVLSSSEESITRINKKIEKFQSEEQOQTEDELQDKHPFAQTQSLVYPPFPPIPNSLPQNIIP LTQTPVYVPPFLQPEVMGVSVKVEAMAPKHKEMPPFKYVVEPFTESQSLTLDVENLHPLPLQSWMHQPHQPLPPTVMFPQPQ VLSLSQSKVLPVPQKAVYPYQDMPQIAFLLYQEPVLPVGRGPFPIIV
39.	BSN-37	METQRASLSLGRCSLWLLLGLVLPASAQALSYREAVLR AVDQFNERSSEANLYRLELDPDPTNDLDPGT RKPVSFVKETDCPR TSQPLEQCDFKENGLVKQCVGTVTLDPNSQDFINCLNLSVFRPPIRRPPIRPPYPPFRPPIRPIFPIRPPFRPLGPPGRR
40.	B34	MGLSDGEWQVLNAGKVAEDVAGHGVQEVLRIFLTHPETLEKDFKFKHLKTEAMKASEDLKKGHTVLTALGGILKKGKHHHEAEVKHLAESHANKHKIPVKY LEFISDAIHVLAHKHPSDFGADAQAAMS KALELFRNDMAAQYKVLGFHG

Примечание: желтым и зеленым отмечены зрелые антимикробные пептиды, красным — сайты действия фермента.



№	Название зрелого АМП	Сайты расщепления
8.	Бета-дефенсин 4	MRLHLLLVAV LFLVLSAGSG FTQVRNPNQS CRWNMGVCIP FLCRVGMROI GTCFGPRVPC CRR
9.	Бета-дефенсин 5	MRLHLLLVAV LFLVLSAGSG FTQVRNPNQS CRWNMGVCIP ISCPGNMROI GTCFGPRVPC CRRW
10.	Бета-дефенсин-6	QGVNRHVTCR IYGGFCVPIR CPGRTRQIGT CFGRPVKCCR RW
11.	Бета-дефенсин 7	MRLHLLLVAV LFLVLSAGSG FTQGVNRFVT CRINRGFCVP IRCPGHRROI GTCLGPRIKC CR
12.	Бета-дефенсин 8	MRLHLLLVAV LFLVLSAGSG FTQGVNRFVT CRINRGFCVP IRCPGHRROI GTCLGPQIKC CR
13.	Бета-дефенсин 9	LALLFLVLSA GSGFTQGVN FVTCRINRGFCVP IIRCPGHR ROIQTCLAPQ IKCCR
14.	Бета-дефенсин 10	MRLHLLLVAV LLVLSAGSG FTQGVRSYLS CWGNRGICLL NRCPGRMROI GTCLAPRVKC CR
15.	Бета-дефенсин 11	MRLHLLLVAV LFLVLSAGSG ISGPLSCRRN GGVCPIRCP GPMROIQTGTCF GRPVKCCRSW
16.	Бета-дефенсин 12	MRLHLLLVAV LFLVLSAASG ISGPLSCRRN GGVCPIRCP VPMROIQTGTCF GRPVKCCRSW
17.	Бета-дефенсин 13	MRLHLLLVAV LFLVLSAASG ISGPLSCRRN GGVCPIRCP VPMROIQTGTCF GRPVKCCRSW
18.	Индолицидин	MQTQRASLSL GRWSLWLLL GLVPSASAQ ALSYREAVLR AVDQLNELSS EANLYRLEL DPPPKDNEDL GTRKPVSFV KETVCPRTIQ QPAEQCDFKE KGRVKQCVGT VTLDPNSDQF DLNCNELQSV LPWKWPWWP WRRG
19.	Семиналплазмин	MMAGRSWPA MATVLLALLV CLGELVDSKP QPSDEKASPD KHHRFSLRY AKLANRLANP KLETFLSKW IGDRGNRS VK
20.	Антимикробный пептид трахеи	MRLHLLLVAV LFLVLSAWSG FTQGVNPNVS CVRNKGICVP IRCPGSMKQI GTCVGRVAVKC CRKK
21.	ВМАР-27	METQRASLSL GRWSLWLLL GLALPSASAQ ALSYREAVLR AVDQFNERSS EANLYRLEL DPPPKEDDEN PNIPKPVSF VKETVCPRTS QQPAEQCDFK ENGLVKQCVG TVTLDAVKGK INVTCEELQS VGRFRFRKK FKLLFKLSP VPLLHLG
22.	ВМАР-28	METQRASLSL GRWSLWLLL GLALPSASAQ ALSYREAVLR AVDQLNEKSS EANLYRLEL DPPPKEDDEN PNIPKPVSF VKETVCPRTS QQSPEQCDFK ENGLLKECVG TVTLDQVGSN FDIITAVPQS VGLRSLGRK ILRAWKKYGP IIVPIIRIG
23.	ВМАР-34	METQRASFSL GRSSLWLLL GLVPSASAQ DLSYREAVLR AVDQFNERSS EANLYRLEL DPPPEQVEH PGARKPVSF VKETVCPRTT POPPEQCDFK ENGLVKQCVG TVTRYWIRGD FDIITCNIQS AGLFRRLRDS IRRGQOKILE KARRIGERIK DIFRG
24.	Лингвальный антимикробный пептид	MRLHLLLVAV LFLVLSAGSG FTQGVNRSQS CRRNKGICVP IRCPGSMROI GTCLGAQVVC CRKK
25.	Хромбацин	AAEFPDFYDSEEQMGPHQEADEFKDRADQRVLTTEEKKELENLAAMDLELQKIAEFKSQR
26.	Энकेлитин	MARFLGLCTW LLALGPGLLA TVRAECSQDC ATCSYRLARP TDLNPLACTL ECEGLPSLK TWETCKELQ LTKLELPDA TSALSKQEES HLLAKKYGGF MKRYGGFMKK MDLYPLEVE EEANGGEVLG KRYGGFMKKD AEEDDGLGNS SNLLKELGA GDQREGSLHQ EGSDAEDVSK RYGGFMRLK RSPHLEDETK ELQKRYGGFM RRVGRPEVWM DYQKRYGGFL KRFAEPLPSE EEGESYSKEV PEMEKRYGGF MRF
27.	ТАР 20N	NPVSCVRNKGICVPIRCPGNMKQIGTCVGRVAVKCCRKK
28.	Секретолитин	MQPAALLGLL GATVVAAVSS MPVDIRNHAE EVVTHCIEV LSNALLKSSA PPITPECRQV LKKNGKELKN EEKSENENTR FEVRLLRDPA DTSEAPGLSS RDSGEGDAQ VPTVADTSE GHSRERAGEP PGSQVAKEAK TRYKSEKQON REEEMVKYQK RERGEVGGSEE RLSEGPQAKA QAFNLQNRQT PAKKEELVSR YDTQSARGLE KHSRERSQ ESGETKSQE NWPQELQRHP EGQEPAGESE EDASPEVDR HSRPRHHGR SRPDRSSQEG NPPLLEESHV GTGNSDEEKA RHPAHFRAIE EGAEYGEV RHSAQAQAGD LQGARFGGRG RGEHQALRRP SEESLEQENK RHGLSPDLNM AQGYSEEE ERGPAGPSY RARGGEAAA STLGQTDKER FLGETHHRVQ ESQRDKARR LPGELRNYLD YGEEKGEEAA RGKWQPGDP RDADENREEA RLRGKYAPH HITEKRLGEL LNPFDPSQW KSSRFERKDP MDDSFLEEE ENGLTLNEKN FFPEYNYDWW EKKPFEEVW WGYEKRNPV KLDLKRQYDR VAELDQLLHY RKKSAEFPDF YDSEEQMSPQ HTAENEEEA QGVLTTEE KLENLAAMD LELQKIAEFK SGTRRG
29.	Хромацин	MRSAAVLALL LCAGQVIALP VNPMNKGDT EVMKCIVEVI SDTSLKSPM PVSKECFETL RGERILSIL RHONLLKELQ DLALQAKER THQKKHSSY EDELSEVLEK PNDQAEKPEV TEEVSKDAA EKRDFFKEVE KSDSDSDGDR PQASPLGPG PKVEEDNQAP GEEEAAPSNA HPLASLSPK YPGQAKEDS EGPSQGPASR EKGLSAEQGR QTEREEEEK WEEAEAREKA VPEEESPTA AFKPPPSLGN KETQRAAPGW PEDGAGKMG AEAAPPEKGG EWAHSRQEE EMARAPQVLF RGGKSGPEQ EEQLSKWED AKRWSKMDQL AKELTAEKRL EGEEEEEEDP DRSMRSLFRA RGYGFRGPG QLRRGWRPNS REDSVEAGLP LQVRGYPEEK KEEEGSANRR PEDQELESLS AIEAELEKVA HQLEELRRG
30.	Вазостатин-1	MRSAAVLALL LCAGQVIALP VNPMNKGDT EVMKCIVEVI SDTSLKSPM PVSKECFETL RGERILSIL RHONLLKELQ DLALQAKER THQKKHSSY EDELSEVLEK PNDQAEKPEV TEEVSKDAA EKRDFFKEVE KSDSDSDGDR PQASPLGPG PKVEEDNQAP GEEEAAPSNA HPLASLSPK YPGQAKEDS EGPSQGPASR EKGLSAEQGR QTEREEEEK WEEAEAREKA VPEEESPTA AFKPPPSLGN KETQRAAPGW PEDGAGKMG AEAAPPEKGG EWAHSRQEE EMARAPQVLF RGGKSGPEQ EEQLSKWED AKRWSKMDQL AKELTAEKRL EGEEEEEEDP DRSMRSLFRA RGYGFRGPG QLRRGWRPNS REDSVEAGLP LQVRGYPEEK KEEEGSANRR PEDQELESLS AIEAELEKVA HQLEELRRG
31.	Говяжий ингибитор трипсина из поджелудочной железы	MKMSRLCLSV ALLVLLGTLA ASTPGCDTSN QAKARPDFC LEPPYTGPKC ARIIRYFNA KAGLCQTFVY GGCRAKRNFF KSAEDCMRTC GGAIGPWENL
32.	Казоцидин-2	MKFFIFTCLLAVALKNTMEHVSSEESIISQETKQEKNAINPSKENLCSTFCKEVVRNANEEEYISGSSEESAEVATEEVKITVD DKHYQKALNEINQFYQKFPQYLQYLYQGPVILNPWDQVQRNAVPIITPLNREQLSTSEENSKKTVDMESTEVFTTKTKLTEEEKNR LNLKIKISORYQKFAILOYLKYVYQHOKAMKPWIQPKTKVIPVRYL
33.	Буфорин-1 (гистон H2A)	AGRGKQGGKV RAKAKTRSSR AGLQFPVGRV HRLLRKGNV
34.	Гистон H2B	MPEPSKSAPA PKKGSKAVT KAQKDKGKR KRSRKSYSV VYKVLKQVH PDTGISSAM GNMNSFVNDI FERLAGEASR LAHYNKRSTI TSREIQTAVR LLLPGELAKH AVSEGTKAVT KYTSSK
35.	Гистон H3	MARTKQTARK STGGAPRKK LATKAARKSA PATGGVKKPH RYRPGTVALR EIRRYQKSTE LLIRKLPFQR LVREIAQDFK TDLRFQSSAV MALQEAACEAY LVGLFEDTNL CAIHAKRVTI MPKDIQLARR IRGERA
36.	Гистон H4	MSGRGKGGKGLKGGAKRHRKVLRDNIQGITKPAIRRLARRGGVVKRISGLIYEETRGVLKIFLENVIRDVITYTEHARRKTVTAMDV VYALKRQGRTYLGFGG
37.	P3 (остатки гемоглобина 97-114)	MVLSAADKGNVKAAGKVGGHAAEYGAELERMFLSPTTKTYFPHFDLSHGSAQVKGHGAQVAALTKAVEHLDLPGALSEL SDLHAHKLVRDPVNFKLHSLLVTLASHLPDSFTPAVHASLDKFLANVSTVLTSKYR
38.	Говяжий бета-казеин	MKVLILACLVALALAREEELNVPGEIVSLSSEESITRINKKIEKFSQEEQQTEDELQDKIHFAQTQSLVYFPFGPIPNLQNP LTQTPVVVPPFLQPEVMGVSKVKEAMAPKHKEMFPKYPVEFTESQSLTLTDVENLHPLPLLSQSMWHQHPQLPPTVMFPQ VLSLSQSKVLPVQKAVPYQRDMPQAFLLYQEPVLPVGRGFPPIV
39.	BSN-37	METQRASLSLGRCSLWLLGLVPSASAQALSYREAVLRVAVDQFNERSS EANLYRLELDPTPNDLDPGTRKPVSFVKETDCPR TSQPLEQCDFKENGVLKQCVGTVTLDPNSDQFINDCNELQSFRFPPIRPPPIRPPFYPPFRPPPIRPPPIRPPFRPP LGPFPGR
40.	B34	MGLSDGEWQLVNAWGKVEADVAGHGQEVLRILFTGHPETLEKFDKFKHLKTEAEMKASEDLKHKHNTVLTALGGILKKKGHEA EVKHLAESHANHKKIPVKYLEFISDAIHHVLAHAKHPSDFGADAQAAMSKALEFRNDMAAQYKVLGFHG

Примечание: желтым и зеленым отмечены зрелые антимикробные пептиды, красным — сайты действия фермента.



№	Название зрелого АМП	Сайты расщепления
6.	Бета-дефенсин 2	MRLHLLLL LFLVLSAGSG FTQGVNRHVTCRINRGFCVPIRCPGRTRQI GTCFGRPIKC CRSW
7.	Бета-дефенсин 3	LALLFLVLSA GSGFTQGVNR HVTCRINRGFCVPIRCPGRTR QOIGTCFGRPIKCCRSW
8.	Бета-дефенсин 4	MRLHLLLLAV LFLVLSAGSG FTQVRVNR PQS CRWNMGVCIP FLCRVGMROI GTCFGRVPC CRR
9.	Бета-дефенсин 5	MRLHLLLLVL LFLVLSAGSG FTQVVNRV PQS CRWNMGVCIP ISCPGNMRQI GTCFGRVPC CRRW
10.	Бета-дефенсин 6	QGVNRHVTCR IYGGFCVPIRCPGRTRQIGT CFCGRPVKCCR RW
11.	Бета-дефенсин 7	MRLHLLLL LFLVLSAGSG FTQGVNRVFT CRINRGFCVPIRCPGRTRQI GTCLGRPIKC CR
12.	Бета-дефенсин 8	MRLHLLLL LFLVLSAGSG FTQGVNRVFT CRINRGFCVPIRCPGRTRQI GTCLGRPIKC CR
13.	Бета-дефенсин 9	LALLFLVLSA GSGFTQGVNR VFTCRINRGFCVPIRCPGRTR QOIGTCLAPQ IKCCR
14.	Бета-дефенсин 10	MRLHLLLL LFLVLSAGSG FTQGVNRVFT CRINRGFCVPIRCPGRTRQI GTCLAPRVKCR CR
15.	Бета-дефенсин 11	MRLHLLLL LFLVLSAGSG ISGPLSCRRN GGVCIPRCP GPMRQIGTFC GRPVKCCR SW
16.	Бета-дефенсин 12	MRLHLLLL LFLVLSAASG ISGPLSCRRN GGVCIPRCP VPMRQIGTFC GRPVKCCR SW
17.	Бета-дефенсин 13	MRLHLLLL LFLVLSAASG ISGPLSCRRN GGVCIPRCP VPMRQIGTFC GRPVKCCR SW
18.	Индолицидин	MQTRASLSL GRWSLWLLL GLVPSASAQ ALSYREAVLR AVDQNLNLS EANLYRLEL DPPPKDNEDL GTRKPVSFV KETVCPRTIQ QPAEQCDFKE KGRVKQCVGT VTLDPSNDQF DLNCLNLSQV LIPKRWVWVW WRRG
19.	Семиналплазмин	MMAGRSWPA MATVLLALLV CLGELVDSKP QPSDEKASPD KHRFSLSRV AKLANRLANP KLETFLSKW IGRGNRSVK
20.	Антимикробный пептид трахеи	MRLHLLLL LFLVLSAASG FTQGVGNPVS CVRNKGCVPIRCPGSMKQI GTCVGRAVKC CRKK
21.	ВМАР-27	METQASLSL GRWSLWLLL GLALPSASAQ ALSYREAVLR AVDQFNERSS EANLYRLEL DPPPKEDDEN PNIPKPVSFV VKETVCPRTS QPAEQCDFK ENGLVKQCVG TVTLDAVKGK INVTCEELQS VGRFKRFRKK FKLLFKKLSV VIPLHLHG
22.	ВМАР-28	METQASLSL GRWSLWLLL GLALPSASAQ ALSYREAVLR AVDQFNERSS EANLYRLEL DPPPKEDDEN PNIPKPVSFV VKETVCPRTS QSPQEQCDFK ENGLKQCVG TVTLQVGSN FDTICAVPQS VGLRLSLGRK ILRAWKKYGP IIVPIRIG
23.	ВМАР-34	METQASLSL GRWSLWLLL GLVPSASAQ DLSYREAVLR AVDQFNERSS EANLYRLEL DPPPEQDVEH PGARKPVSFV VKETVCPRTT QPPEQCDFK ENGLVKQCVG TVTRYWIRGD FDTICNNIQS AGLFRRLRDS IRRGQOKILE KARRIGERIK DIFRG
24.	Лингвальный антимикробный пептид	MRLHLLLL LFLVLSAGSG FTQGVNRVNSQS CRRNKGICVPIRCPGSMRQI GTCLGAQVKC CRKK
25.	Хромбацин	AAEFPDFYDSEEQMGP HQEADEKDRADQ RVLTEEEKELLENLAAMDLELQKIAEKFSQR
26.	Энкелитин	MARFLGLCTW LLALGPGLLA TVRAECSQDC ATCSYRLARP TDLNPLACTL ECEGKLPK TWETCKELLO LTKLELPPDA TSALSKQEEES HLLAKYGGF MKRYGGFMKK MDLYPLEVE EEANGGEVLG KRYGGFMKKD AEEDDGLGNS SNLLKELLAGD QREGSLHQ EGDAEDVSK RYGGFMRLK RSPHLEDETK ELQKRYGGFM RRVGRPEWWM DYQKRYGGFL KRFAEPLPSE EEGESYSKEV PEMEKRYG MRF
27.	ТАР 20N	NPVSCVRNKGICVPIRCPGNMKQIGTFCVGRAVKCCRKK
28.	Секретолитин	MQPAALLGLL GATVVAAVSS MPVDIRNHNE EVVTHCIEV LSNALLKSSA PPITPECQV LKKNKGLKN EEKSENENTR FEVLLLRDPA DTSEAPGLSS REDSGEGDAQ VPTVADTESG GHSRERAGEP PGSQVAKK TRYKSEGN REEEMVKYQK RERGEVGSSE RLSEGPQAQ TAFLNQRNQT PAKKEELVSR YDTQSARGLE KHSRERSQ ESGETKSQE NWPQELQRHP EGQEAQGESE EDASPEVDKR HSRPRHHGR SRPDRSSQEG NPPLEESHV GTGNSDEEKA RHPAHFRALE EGAEYGEVVRHSAQAQPGD LQGARFGGRG RGEHQALRRP SEESLEQENK RHGLSPDLNM AOGYSESEE ERGPAPGYSY RARGGEEAAY STLQKDEKR FLGETHHRVQ ESQRDKARR LPGELRNYLD YGEEKGEEA RGKWQPQGD RDADENREEA RLRGKYAPH HITEKRLGEL LNPFYDPSQW KSSRFERKDP MDSFLEGE ENGLTNEKN FPEYNYDWW EKPFEDVN WGYEKRNPV KLDLKROYDR VAELDQLHY RKSAEFPDF YDSEEQMSPO HTAENEEKA GQVLTETEE KELENLAAMD LELQKIAEF SGTRRG
29.	Хромацин	MRSAAVLALL LCAGQVIALP VNSPMNKGDT EVMKCIWEI SDTLSKPSM PVSKECFETL RGDERSIL RHQNLKELQ DLALQGAKE THQKKHSSY EDELSEVLEK PNDQAEPEV TEEVSSKDAE EKRDDFKEVE KSDSDSDGDR PQASPLGPG PKVEEDNQAP GEEEAAPSNA HPLASLPSK YPGQAKEDS EGPSQGPASR EKGLSAEQGR QTEREEEEK WEEAAREKA VPPEESPTA AFKPPSLGN KETQRAAPGW PEDGAGKMG EAAPPEGKG EWAHSRQEE EMARAPQVLF RGGKSGEPEQ EEQLSKEWED AKRWSKMDQL AKELTAEKRL EGEEEEEEDP DRSMRSLFRA RGYGFRGPG LQRRGWPN REDSVEAGLP LQVRGYPEEK KEEEGSANRR PEDQELSL AIEAELEKVA HQLEELRRG
30.	Вазостатин-1	MRSAAVLALL LCAGQVIALP VNSPMNKGDT EVMKCIWEI SDTLSKPSM PVSKECFETL RGDERSIL RHQNLKELQ DLALQGAKE THQKKHSSY EDELSEVLEK PNDQAEPEV TEEVSSKDAE EKRDDFKEVE KSDSDSDGDR PQASPLGPG PKVEEDNQAP GEEEAAPSNA HPLASLPSK YPGQAKEDS EGPSQGPASR EKGLSAEQGR QTEREEEEK WEEAAREKA VPPEESPTA AFKPPSLGN KETQRAAPGW PEDGAGKMG EAAPPEGKG EWAHSRQEE EMARAPQVLF RGGKSGEPEQ EEQLSKEWED AKRWSKMDQL AKELTAEKRL EGEEEEEEDP DRSMRSLFRA RGYGFRGPG LQRRGWPN REDSVEAGLP LQVRGYPEEK KEEEGSANRR PEDQELSL AIEAELEKVA HQLEELRRG
31.	Говяжий ингибитор трипсина из поджелудочной железы	MKMSRLCLSV ALLVLLGTLA ASTPGCDTSN QAKAQRPDFC LEPPYTGPK ARIIRYFNA KAGLCQTFVY GGCRAKRNNF KSAEDCMRTC GGAIGPWENL
32.	Казоцидин-2	MKFFIFTCLLAVALAKNTMEHVSSEESIHSQETQKQEKNAIPNSKENLCTFCKEVVRNANEEYSIGSSSESAEVATEEVKITV DDKHYKALNEINQFYQKFPQYLQYLQYQPIVLPWDQVKNNAVITP TLNREQLSTSEENSKKTVDMESTEVTTK TKLTEEEK NRLNFKKISORYQK FALPOYLK TVYQHOKAMKPWIQPKTIVPYVRYL
33.	Буфорин-1 (гистон H2A)	AGRGKQGGKV RAKAKTRSSR AGLQFPVGRV HRLLRKGNV
34.	Гистон H2B	MPEPSKAPA PKKGSKAVT KAQKDGKRR KRSRSESYSV YVYKVLKQVH PDTGISSKAM GNMNSFVNDI FERIAEASR LAHYNKRSTI TSREIQTAVR LLLPGLAKH AVSEGTKAVT KYTSSK
35.	Гистон H3	MARTKQTARK STGGKAPRKQ LATKAARKSA PATGGVKKPH RYRPGTVALR EIRRYQKSTE LLIRKLPFQR LVREIAQDFK TDLRFQSSAV MALQEAACEAY LVGLFEDTNL CAIHAKRVTI MPKDIQIARR IRGERA
36.	Гистон H4	MSGRGKGGKGLGKGGAKRHRKVLDRNIQIGTKPAIRRLARRGGVVKRISGLIYEETRGVLKIFLENVIRDAVITYEHARRKTVTAMD VVYALKRQGR TLYGFGG
37.	P3 (остатки гемоглобина 97-114)	MVLSAADKGNVKAAGVKGVGHAAEYGAELERMFLSFTTKTYFPHFDLSHGSAQVKGHAKVAAALTKAVEHLDDLPGALSE LSDLHAKLRVDP VNFKLLSHSLVTLASHLP SDFTPAVHASLDKFLANVSTVLT SKYR
38.	Говяжий бета-казеин	MKVLILACLVALALARELELNPGEIVSLSSEESITRINKKIEKFQSEEQQTEDELQDKIHFAQTQSLVYPPFGPIPNLQNI PPLTQTPVVVPPFLOPEVMGSKVKEAMAPKHKEMPPFK YPVEPFTESQSLTLDVENLHPLPLLSQSWMHQHPPLPTVMFP PQSVLSLSQSKVLPVPPQAVPYPQRDMPIQAFLLYQEPVLPVGRGFPPIV
39.	BSN-37	METQASLSLGRCSLWLLLGLVLPASAQALS YREAVLR AVDQFNERSS EANLYRLEL DPTPNDDLDPGTRKPVSFVVKETDCPRT SQPLEQCDFK ENGLVKQCVGTVTLDPNSDQFDINCNELQSVRFRPPIRRPPIRPPYPPFRPPIRPPIRPPRPL LGPFPGR
40.	B34	MGLSDGEWQVLNAGKVEADVAGHGQEVLRIRLFTGHPELEKFKHLKTEAMKASEDLKKGHTVLTALGGILKKGKHH EAEVKHLAESHANKHKIPVYLEFISDAIHPVLAHAKHPSDFGADAQAAMSKALELFRNDMAAQYKVLGFGH

Примечание: желтым и зеленым отмечены зрелые антимикробные пептиды, красным — сайты действия фермента.

### Действие трипсина на препропептидные предшественники АМП

В группе АМП *Sus scrofa* под названием протегины, которые содержат всего от 16 до 18 аминокислотных остатков, определялось до 5 сайтов расщепления внутри зрелой последовательности, в то время как в Профенине-1 и Профенине-2, содержащих 78 и 79 АК-остатков соответственно, было выявлено по 6 сайтов расщепления. Группа АМП под названием РМАР также характеризовалась наличием большого количества сайтов расщепления — от 6 (в РМАР-23) до 13 (в РМАР-36), что в случае реального воздействия трипсином привело бы к сильному снижению биологической активности пептида [21]. В исследовании Ebbensgaard и др. было показано, что взаимодействие таких АМП, как Сар 18, Цекропин Р1, Цекропин В, Мелиттин и Индолицидин, с трипсином приводит к полной потере их антимикробной активности уже через 30 секунд инкубации [21]. Вероятность внутреннего расщепления пептида зависит в большей степени не от размера АМП, а от его строения. Наибольшее количество сайтов расщепления среди зрелых антимикробных соединений *Sus scrofa* было выявлено в свином лизоциме — 20 единиц, в то время как наименьшее — в антимикробном пептиде SP-B (1 сайт расщепления).

Рассматривая результаты определения сайтов расщепления в предшественниках АМП *Bos taurus*, можно аналогично результатам анализа *Sus scrofa* отметить большое содержание данных сайтов в зрелых последовательностях АМП. Стоит отметить, что организм *Bos taurus* характеризуется присутствием большой группы АМП под названием бета-дефензины, в зрелых последовательностях которых выявлено до 9 сайтов расщепления (в Бета-дефензинах 2, 3 и 6). Данные АМП содержат в себе от 38 до 42 АК-остатков. Известно, что бета-дефензины конститутивно экспрессируются в молочных железах крупного рогатого скота и проявляют бактерицидную активность в отношении широкого спектра патогенов, включая *Escherichia coli* и *Staphylococcus aureus* [22]. В группе ВМАР, содержащих от 27 до 34 АК-остатков, было выявлено от 7 (ВМАР-28) до 11 (ВМАР-34) сайтов расщепления внутри зрелых последовательностей. Наибольшее количество сайтов расщепления среди АМП *Bos taurus* было обнаружено в группе гистонов — от 24 (у Гистона Н4) до 29 единиц (у Гистона Н3), в то время как наименьшее — в таких АМП, как Р3 и говяжий бета-казеин. У последних сайт расщепления был всего один и либо не влиял на уменьшение АК-последовательности АМП, либо имел незначительное влияние. Бета-казеин и Р3 находятся не в С-концевой части последовательности препропептидного предшественника, таким образом, после воздействия трипсином данные пептиды, возможно, еще будут «пришиты» к части последовательности предшественника, не обладающей активностью.

В целом, результаты определения сайтов расщепления для трипсина в предшественниках АМП организмов *Sus scrofa* и *Bos taurus* (Таблица 1) показали, что довольно большое содержание аргинина (R) и лизина (K) в АМП и их предшественниках приводит к образованию чрезмерного множества фрагментов, расщепляя в том числе зрелую пептидную последовательность. Так, процентное содержание АК-остатков аргинина (R) и лизина (K) в зрелых АМП *Sus scrofa* составляет 12,92% и 6,46% соответственно, а содержание этих же АК-остатков в зрелых АМП *Bos taurus* составляет 13,48% и 7,79% соответственно. Это не является существенным отличием и показывает примерно одинаковую эффективность воздействия трипсина на расщепление АМП данных организмов. Учитывая также тот факт, что трипсин проявляет большую активность на С-концевой стороне белка [18], а также то, что большинство зрелых АМП сосредоточены именно в этой области, можно сделать вывод: трипсин не является подходящим энзимом для извлечения АМП из их препропептидных предшественников.

### Действие эластазы на препропептидные предшественники АМП

Нейтрофильная эластаза относится к группе сериновых протеаз и осуществляет гидролиз преимущественно по связям валина (Val (V) -|- Хаа) и аланина (Ala (A) -|-Хаа) (Рисунок 2) [23,24].

В группе протегинов, где внутри зрелых последовательностей было найдено до пяти сайтов расщепления при воздействии трипсина, при влиянии эластазы обнаруживалось максимум три сайта расщепления. Один из сайтов расщепления находился в начале N-концевой части зрелого пептида, обеспечивая его высвобождение из предшественника. Другие сайты располагались в С-концевой части, расщепление по ним приводило к укорачиванию пептида, что может влиять на его активность. Кроме того, результаты показали, что такие АМП *Sus scrofa*, как РМАР-37, PR-39, Профенин-1 и PR-35, будут также высвобождаться под воздействием эластазы с минимальным изменением их структуры, несмотря на то, что количество сайтов расщепления в их предшественниках достигало 21 (в предшественнике Профенина-1).

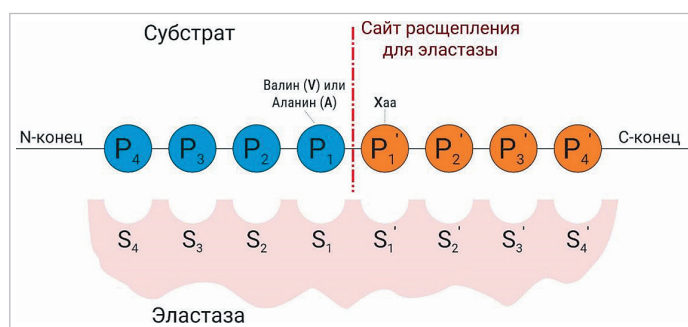


Рисунок 2. Предпочтительный сайт расщепления для эластазы

Figure 2. Preferred cleavage site for elastase

Примечание: сайты узнавания субстрата пронумерованы  $S_1-S_n$  в направлении N-конца субстрата и  $S_1'-S_n'$  в направлении С-конца. Аминокислотные остатки субстрата пронумерованы  $P_1-P_n$  и  $P_1'-P_n'$  соответственно. Нумерация начинается с разрезаемой связи.

Note: The substrate binding sites downstream of the cleavage site are numbered  $S_1-S_n$  towards the N-terminus of the substrate and  $S_1'-S_n'$  towards the C-terminus. The substrate residues are numbered  $P_1-P_n$  and  $P_1'-P_n'$  respectively. The numbering starts at the scissile bond.

Среди АМП *Bos taurus* также были выявлены пептиды, обладающие высоким потенциалом извлечения с помощью эластазы — Бактенецин-5, Бактенецин-7 и Индолицидин. Группа дефензинов характеризовалась наличием от 2 (Бета-дефензины 1, 2, 8 и 11) до 4 (Бета-дефензины 4 и 5) сайтов расщепления внутри зрелой последовательности, однако они были расположены ближе к ее центру, что может приводить к сильному укорачиванию АМП и, как следствие, к снижению их активности. Группа ВМАР характеризовалась наличием одного сайта расщепления в начале зрелой последовательности пептида, однако последующие сайты укорачивали ее с С-концевой стороны. Аналогичное влияние эластазы может оказывать на предшественник пептида BSN-37: в нем выявлено 16 сайтов расщепления, последний из которых «разрезает» препропептидную молекулу в месте начала зрелой последовательности антимикробного пептида. Тем не менее, как и АМП группы ВМАР, пептид не высвобождался полностью, будучи «сшитым» с восемью аминокислотными остатками предшественника, что способно снизить активность BSN-37.

Среднее относительное содержание валина и аланина было несколько ниже в зрелых антимикробных последовательностях *Sus scrofa* и *Bos taurus*, по сравнению с содержанием аргинина и лизина. Так, для АМП *Sus scrofa* процентное содержание валина и аланина составляло 5,11% и 3,36% соответственно, а для АМП *Bos taurus* — 5,51% и 4,6%. Это соотношение влияло и на распределение сайтов расщепления эластазы в зрелых АМП *Sus scrofa* и *Bos taurus* — их количество было в целом меньшим, чем в случае с трипсином. Возможности эластазы для активации АМП уже были продемонстрированы коллективом итальянских ученых в 2022 году: ими было разработано пролекарство, удлиняющее антимикробный пептид D-ВМАР18 отрицательно заряженной инактивирующей последовательностью, содержащей сайт расщепления нейтрофильной эластазой [25]. Конечная цель заключалась в том, чтобы обеспечить активацию D-ВМАР18 эндогенной эластазой только в месте инфекции/воспаления, обеспечивая медленное и целенаправленное высвобождение фармакологически активного пептида. Пролекарство обладало минимальной активностью в отсутствие эластазы, а продукт его протеолиза сохранял значительную антимикробную активность, но меньшую цитотоксичность. Таким образом, потенциал применения эластазы для извлечения АМП из препропептидных предшественников организмов *Sus scrofa* и *Bos taurus* является достаточно высоким.

### Действие коллагеназы на препропептидные предшественники АМП

Бактериальная коллагеназа I типа представляет собой протеазу, расщепляющую связь между нейтральной аминокислотой (Хаа) и глицином в последовательности Pro(P)-Хаа-|-Gly(G)-Pro(P) (Рисунок 3) [26,27].

Лишь у 3-х предшественников АМП *Sus scrofa* были обнаружены сайты расщепления для коллагеназы: Профенин-2, SP-B и SP-E, причем в предшественнике Профенина-2, содержащем 228 АК-остатков, коллагеназа отщепляла только последние 9 С-концевых АК-остатка, оставляя «пришитой» основную часть АМП к N-концевой части. В пептидах SP-B и SP-E специфические последовательности обнаруживались чаще, однако они находились посередине антимикробной

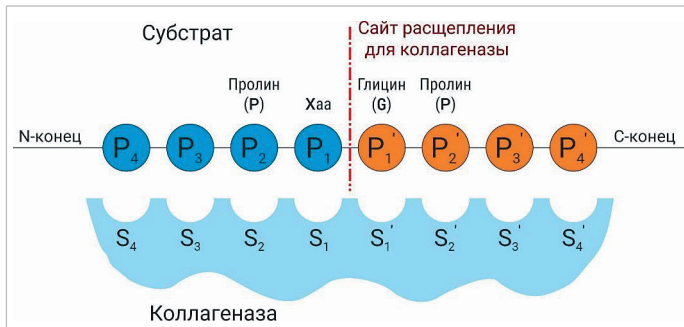


Рисунок 3. Предпочтительная последовательность для расщепления коллагеназой

Figure 3. Preferred cleavage site for collagenase

Примечание: сайты узнавания субстрата пронумерованы  $S_1-S_4$  в направлении N-конца субстрата и  $S_1'-S_4'$  в направлении C-конца. Аминокислотные остатки субстрата пронумерованы  $P_1-P_n$  и  $P_1'-P_n'$  соответственно. Нумерация начинается с разрезаемой связи.

Note: The substrate binding sites downstream of the cleavage site are numbered  $S_1-S_4$  towards the N-terminus of the substrate and  $S_1'-S_4'$  towards the C-terminus. The substrate residues are numbered  $P_1-P_n$  and  $P_1'-P_n'$  respectively. The numbering starts at the scissile bond.

последовательности зрелого пептида. При воздействии коллагеназы на данные АМП их последовательность укорачивалась бы вдвое, что значительно снижало бы их активность [28].

Среди предшественников АМП *Bos taurus* наблюдались схожие результаты: сайты расщепления были обнаружены только в предшественниках Бактенецина-5 и BSN-37. При этом, как и в случае с предшественником Профенина-2, воздействие коллагеназой позволило бы отщепить только несколько АК-остатков в С-концевой части препептидного предшественника Бактенецина-5 и BSN-37.

В связи со специфичностью необходимой последовательности субстрата, результаты определения сайтов расщепления для коллагеназы не показали значимого результата, несмотря на довольно высокое содержание пролина и глицина в зрелых последовательностях АМП как *Sus scrofa*, так и *Bos taurus*. Так, содержание АК-остатков пролина и глицина в АМП *Sus scrofa* в среднем составляло 22,47% и 9,15% соответственно, а в АМП *Bos taurus* — 9,67% и 8,81%.

Ранее было показано, что вследствие особенностей строения большинства АМП млекопитающих имеют изоэлектрическую точку (pI) в щелочном диапазоне pH [7,29], в связи с чем некоторые ученые рекомендуют применять слабкокислотную экстракцию для их эффективного извлечения [30,31]. Для дальнейшей же ферментативной обработки экстракта с целью высвобождения и активации АМП необходимо учитывать оптимум действия pH конкретного фермента. Так, для протеолитического действия трипсина диапазон оптимальных значений pH составляет 7,0–8,0 [32], для коллагеназы — от 6,0 до 7,0 [33], для эластазы — около 7,0 [34]. Таким образом, при использовании слабкокислых экстрагентов в дальнейшем необходимо будет нейтрализовать полученные экстракты для более эффективного воздействия рассматриваемых ферментов. Согласно данным Таблиц 1, 2 и 3, а также учитывая особенности протеолитического действия ферментов при различных значениях pH, можно распределить фер-

менты от менее предпочтительного к более предпочтительному для высвобождения АМП из предшественников в организмах *Sus scrofa* и *Bos taurus* следующим образом: бактериальная коллагеназа (тип I)  $\leq$  трипсин  $<$  нейтрофильная эластаза.

В эпоху применения современных биоинформатических инструментов алгоритм прогнозирования действия ферментов для извлечения АМП из различных типов сырья может отличаться от представленного в данном исследовании, так как на сегодняшний день существуют современные онлайн-ресурсы, позволяющие, к примеру, учитывать нюансы пространственного расположения белков, желаемую вероятность их расщепления и т. д. Одним из таких ресурсов является PeptideCutter ([https://web.expasy.org/peptide\\_cutter/](https://web.expasy.org/peptide_cutter/)) [35] на базе ExPASy — биоинформатического портала Швейцарского института биоинформатики. С помощью PeptideCutter можно предсказать потенциальные сайты расщепления в АК-последовательности для некоторых протеаз (каспазы 1–10, пепсин, трипсин, Arg-C протеиназа, Asp-N эндопептидаза, энтерокиназа, нейтрофильная эластаза, пролин-эндопептидаза) или химических веществ. Тем не менее онлайн-инструменты на сегодняшний день предоставляют информацию лишь о небольшом количестве ферментов, а также существуют ограничения в доступе к некоторым из них. Таким образом, «ручной» биоинформатический анализ все еще актуален и востребован, а также демонстрирует свою применимость в проведении первичного скрининга потенциала сырья и в процессе определения подходящих ферментов для извлечения антимикробных соединений из организмов *Sus scrofa* и *Bos taurus*.

#### 4. Выводы

Антимикробные соединения животного происхождения, в частности АМП, являются актуальными объектами исследований уже долгое время, и могут стать хорошей альтернативой антимикробным препаратам антибиотической природы. Тем не менее извлечение эндогенных АМП является затруднительным процессом и требует применения принципов направленной ферментативной обработки на основании знаний о строении предшественников данных соединений. По итогам поиска антимикробных соединений в базе данных The Antimicrobial Peptide Database было выявлено 18 антимикробных пептидов *Sus scrofa* и 40 антимикробных пептидов *Bos taurus*. Согласно результатам определения сайтов расщепления в препептидных предшественниках АМП для трипсина, эластазы и коллагеназы, ферменты были распределены от менее предпочтительного к более предпочтительному для высвобождения АМП следующим образом: бактериальная коллагеназа (тип I)  $\leq$  трипсин  $<$  нейтрофильная эластаза. Такой порядок обоснован не только количеством подходящих сайтов расщепления и их точностью, но и действием ферментов внутри зрелых АМП: важно учитывать, что ферменты могут «разрезать» сами пептиды, снижая тем самым их антимикробную активность. Кроме того, известно, что активность трипсина выше с С-конца препептида, где и локализовано большинство антимикробных пептидов у *Sus scrofa* и *Bos taurus*. Проведенный биоинформатический анализ показал эффективность как в проведении первичного скрининга потенциала сырья, так и при определении подходящих ферментов для направленного извлечения антимикробных соединений из организмов *Sus scrofa* и *Bos taurus*.

## БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

- Saga, T., Yamaguchi, K. (2009). History of antimicrobial agents and resistant bacteria. *Japan Medical Association Journal*, 52(2), 103–108.
- Gensini, G. F., Conti, A. A., Lippi, D. (2007). The contributions of Paul Ehrlich to infectious disease. *Journal of Infection*, 54(3), 221–224. <https://doi.org/10.1016/j.jinf.2004.05.022>
- Wang, J., Dou, X., Song, J., Lyu, Y., Zhu, X., Xu, L. et al. (2019). Antimicrobial peptides: Promising alternatives in the post feeding antibiotic era. *Medicinal Research Reviews*, 39(3), 831–859. <https://doi.org/10.1002/med.21542>
- Magana, M., Pushpanathan, M., Santos, A. L., Leanse, L., Fernandez, M., Ioannidis, A. et al. (2020). The value of antimicrobial peptides in the age of resistance. *The Lancet Infectious Diseases*, 20(9), e216–e230. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(20\)30327-3](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(20)30327-3)
- Bechinger, B., Gorr, S.-U. (2017). Antimicrobial peptides: Mechanisms of action and resistance. *Journal of Dental Research*, 96(3), 254–260. <https://doi.org/10.1177/0022034516679975>
- APD3: Antimicrobial Peptide Database. Retrieved from <https://aps.unmc.edu/>. Accessed January 24, 2024.
- Katedra Biochemii Żywności. Bioactive peptide databases. Retrieved from <https://biochemia.uwm.edu.pl/bioactive-peptide-databases/>. Accessed January 24, 2024.
- Huan, Y., Kong, Q., Mou, H., Yi, H. (2020). Antimicrobial peptides: Classification, design, application and research progress in multiple fields. *Frontiers in Microbiology*, 11, Article 582779. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.582779>
- Bhattacharjya, S., Mohid, S. A., Bhunia, A. (2022). Atomic-resolution structures and mode of action of clinically relevant antimicrobial peptides. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(9), Article 4558. <https://doi.org/10.3390/ijms23094558>
- Reddy, K. V. R., Yedery, R. D., Aranha, C. (2004). Antimicrobial peptides: Premises and promises. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 24(6), 536–547. <https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2004.09.005>
- Hanson, M. A., Lemaitre, B., Unckless, R. L. (2019). Dynamic evolution of antimicrobial peptides underscores trade-offs between immunity and ecological fitness. *Frontiers in Immunology*, 10, Article 2620. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2019.02620>
- Zhang, L.-J., Gallo, R. L. (2016). Antimicrobial peptides. *Current Biology*, 26(1), R14–R19. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2015.11.017>
- Keymanesh, K., Soltani, S., Sardari, S. (2009). Application of antimicrobial peptides in agriculture and food industry. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 25(6), 933–944. <https://doi.org/10.1007/s11274-009-9984-7>
- Barashkova, A. S., Rogozhin, E. A. (2020). Isolation of antimicrobial peptides from different plant sources: Does a general extraction method exist? *Plant Methods*, 16(1), Article 143. <https://doi.org/10.1186/s13007-020-00687-1>
- Sultana, A., Luo, H., Ramakrishna, S. (2021). Harvesting of antimicrobial peptides from insect (*Hermetia illucens*) and its applications in the food packaging. *Applied Sciences*, 11(15), Article 6991. <https://doi.org/10.3390/app11156991>



16. Vizioli, J., Salzet, M. (2002). Antimicrobial peptides from animals: Focus on invertebrates. *Trends in Pharmacological Sciences*, 23(11), 494–496. [https://doi.org/10.1016/S0165-6147\(02\)02105-3](https://doi.org/10.1016/S0165-6147(02)02105-3)
17. UniProt Protein Database. Retrieved from <http://www.uniprot.org/>. Accessed January 24, 2024.
18. Dau, T., Bartolomucci, G., Rappsilber, J. (2020). Proteomics using protease alternatives to trypsin benefits from sequential digestion with trypsin. *Analytical Chemistry*, 92(14), 9523–9527. <https://doi.org/10.1021/acs.analchem.0c00478>
19. Trypsin-1. Retrieved from <https://www.uniprot.org/uniprot/P07477>. Accessed January 25, 2024.
20. Bioinformatics explained: Proteolytic cleavage. QIAGEN Digital Insights. Retrieved from [https://resources.qiagenbioinformatics.com/manuals/clcgenomicsworkbench/650/BE\\_Proteolytic\\_cleavage.html](https://resources.qiagenbioinformatics.com/manuals/clcgenomicsworkbench/650/BE_Proteolytic_cleavage.html). Accessed February 6, 2024.
21. Ebbensgaard, A., Mordhorst, H., Overgaard, M. T., Nielsen, C. G., Aarstrup, F. M., Hansen, E. B. (2015). Comparative evaluation of the antimicrobial activity of different antimicrobial peptides against a range of pathogenic bacteria. *PLoS ONE*, 10(12), Article e0144611. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0144611>
22. Daneshi, M., Caton, J. S., Caixeta, L. S., Eftekhari, Z., Ward, A. K. (2023). Expression, regulation, and function of  $\beta$ -defensins in the bovine mammary glands: Current knowledge and future perspectives. *Animals*, 13(21), Article 3372. <https://doi.org/10.3390/ani13213372>
23. Elastase, neutrophil expressed. Retrieved from <https://www.uniprot.org/uniprot/A0A286ZN14>. Accessed January 24, 2024.
24. Vizovišek, M., Vidmar, R., Fonović, M., Turk, B. (2016). Current trends and challenges in proteomic identification of protease substrates. *Biochimie*, 122, 77–87. <https://doi.org/10.1016/j.biochi.2015.10.017>
25. Degasperis, M., Sgarra, R., Mardirossian, M., Pacor, S., Maschio, M., Scocchi, M. (2022). Elastase-activated antimicrobial peptide for a safer pulmonary treatment of cystic fibrosis infections. *Antibiotics*, 11(3), Article 319. <https://doi.org/10.3390/antibiotics11030319>
26. Collagenase ColG. Retrieved from <https://www.uniprot.org/uniprotkb/Q9X721/entry>. Accessed February 6, 2024.
27. Eckhard, U., Huesgen, P. F., Brandstetter, H., Overall, C. M. (2014). Proteomic protease specificity profiling of clostridial collagenases reveals their intrinsic nature as dedicated degraders of collagen. *Journal of Proteomics*, 100, 102–114. <https://doi.org/10.1016/j.jprot.2013.10.004>
28. Cantisani, M., Finamore, E., Mignogna, E., Falanga, A., Nicoletti, G. F., Pedone, C. et al. (2014). Structural insights into and activity analysis of the antimicrobial peptide myxinidin. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 58(9), 5280–5290. <https://doi.org/10.1128/AAC.02395-14>
29. Лукинова, Е. А., Котенкова, Е. А., Полищук, Е. К. (2018). Изучение антимикробных свойств биологически активных веществ животного происхождения в зависимости от методологии их выделения. *Теория и практика переработки мяса*, 3(3), 27–35. <https://doi.org/10.21323/2414-438X-2018-3-3-27-35>
30. Кораблева, Е. С., Берлов, У., Андреева, Ю. В., Кокряков, В. Н. (2007). Антимикробный пептид из лейкоцитов собаки: структурно-функциональные свойства. *Вестник Санкт-Петербургского университета. Серия 3. Биология*, 3, 80–88.
31. Юхнев, В. А., Шартукова, М. А., Луговкина, Н. В., Кокряков, В. Н., Шамова, О. В. (2014). Поиск новых антимикробных пептидов из семейства кателицидинов и дефенсинов в лейкоцитах лося (*Alces alces*). *Вестник СПбГУ. Серия 3. Биология*, 1, 115–131.
32. Wirnt, R. (1965). Trypsin. Chapter in a book: *Methods of Enzymatic Analysis*. Academic Press, 1965. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-395630-9.50146-8>
33. Creative Enzymes. Collagenase. Retrieved from [https://www.creative-enzymes.com/similar/collagenase\\_148.html](https://www.creative-enzymes.com/similar/collagenase_148.html). Accessed February 5, 2024.
34. Korkmaz, B., Gauthier, F. (2015). Elastase-2/Leukocyte Elastase. Chapter in a book: *Handbook of Proteolytic Enzymes*. Academic Press, 2013. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-382219-2.00587-1>
35. ExPasy. PeptideCutter. Retrieved from [https://web.expasy.org/peptide\\_cutter/](https://web.expasy.org/peptide_cutter/). Accessed February 5, 2024.

## REFERENCES

1. Saga, T., Yamaguchi, K. (2009). History of antimicrobial agents and resistant bacteria. *Japan Medical Association Journal*, 52(2), 103–108.
2. Gensini, G. F., Conti, A. A., Lippi, D. (2007). The contributions of Paul Ehrlich to infectious disease. *Journal of Infection*, 54(3), 221–224. <https://doi.org/10.1016/j.jinf.2004.05.022>
3. Wang, J., Dou, X., Song, J., Lyu, Y., Zhu, X., Xu, L. et al. (2019). Antimicrobial peptides: Promising alternatives in the post feeding antibiotic era. *Medicinal Research Reviews*, 39(3), 831–859. <https://doi.org/10.1002/med.21542>
4. Magana, M., Pushpanathan, M., Santos, A. L., Leanse, L., Fernandez, M., Ioannidis, A. et al. (2020). The value of antimicrobial peptides in the age of resistance. *The Lancet Infectious Diseases*, 20(9), e216–e230. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(20\)30327-3](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(20)30327-3)
5. Bechinger, B., Gorr, S.-U. (2017). Antimicrobial peptides: Mechanisms of action and resistance. *Journal of Dental Research*, 96(3), 254–260. <https://doi.org/10.1177/0022034516679975>
6. APD3: Antimicrobial Peptide Database. Retrieved from <https://aps.unmc.edu/>. Accessed January 24, 2024.
7. Katedra Biochemii Żywności. Bioactive peptide databases. Retrieved from <https://biochemia.uwm.edu.pl/bioactive-peptide-databases/>. Accessed January 24, 2024.
8. Huan, Y., Kong, Q., Mou, H., Yi, H. (2020). Antimicrobial peptides: Classification, design, application and research progress in multiple fields. *Frontiers in Microbiology*, 11, Article 582779. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.582779>
9. Bhattacharjya, S., Mohid, S. A., Bhunia, A. (2022). Atomic-resolution structures and mode of action of clinically relevant antimicrobial peptides. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(9), Article 4558. <https://doi.org/10.3390/ijms23094558>
10. Reddy, K. V. R., Yedery, R. D., Aranha, C. (2004). Antimicrobial peptides: Premises and promises. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 24(6), 536–547. <https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2004.09.005>
11. Hanson, M. A., Lemaitre, B., Unckless, R. L. (2019). Dynamic evolution of antimicrobial peptides underscores trade-offs between immunity and ecological fitness. *Frontiers in Immunology*, 10, Article 2620. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2019.02620>
12. Zhang, L.-J., Gallo, R. L. (2016). Antimicrobial peptides. *Current Biology*, 26(1), R14–R19. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2015.11.017>
13. Keymanesh, K., Soltani, S., Sardari, S. (2009). Application of antimicrobial peptides in agriculture and food industry. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 25(6), 933–944. <https://doi.org/10.1007/s11274-009-9984-7>
14. Barashkova, A. S., Rogozhin, E. A. (2020). Isolation of antimicrobial peptides from different plant sources: Does a general extraction method exist? *Plant Methods*, 16(1), Article 143. <https://doi.org/10.1186/s13007-020-00687-1>
15. Sultana, A., Luo, H., Ramakrishna, S. (2021). Harvesting of antimicrobial peptides from insect (*Hermetia illucens*) and its applications in the food packaging. *Applied Sciences*, 11(15), Article 6991. <https://doi.org/10.3390/app11156991>
16. Vizioli, J., Salzet, M. (2002). Antimicrobial peptides from animals: Focus on invertebrates. *Trends in Pharmacological Sciences*, 23(11), 494–496. [https://doi.org/10.1016/S0165-6147\(02\)02105-3](https://doi.org/10.1016/S0165-6147(02)02105-3)
17. UniProt Protein Database. Retrieved from <http://www.uniprot.org/>. Accessed January 24, 2024.
18. Dau, T., Bartolomucci, G., Rappsilber, J. (2020). Proteomics using protease alternatives to trypsin benefits from sequential digestion with trypsin. *Analytical Chemistry*, 92(14), 9523–9527. <https://doi.org/10.1021/acs.analchem.0c00478>
19. Trypsin-1. Retrieved from <https://www.uniprot.org/uniprot/P07477>. Accessed January 25, 2024.
20. Bioinformatics explained: Proteolytic cleavage. QIAGEN Digital Insights. Retrieved from [https://resources.qiagenbioinformatics.com/manuals/clcgenomicsworkbench/650/BE\\_Proteolytic\\_cleavage.html](https://resources.qiagenbioinformatics.com/manuals/clcgenomicsworkbench/650/BE_Proteolytic_cleavage.html). Accessed February 6, 2024.
21. Ebbensgaard, A., Mordhorst, H., Overgaard, M. T., Nielsen, C. G., Aarstrup, F. M., Hansen, E. B. (2015). Comparative evaluation of the antimicrobial activity of different antimicrobial peptides against a range of pathogenic bacteria. *PLoS ONE*, 10(12), Article e0144611. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0144611>
22. Daneshi, M., Caton, J. S., Caixeta, L. S., Eftekhari, Z., Ward, A. K. (2023). Expression, regulation, and function of  $\beta$ -defensins in the bovine mammary glands: Current knowledge and future perspectives. *Animals*, 13(21), Article 3372. <https://doi.org/10.3390/ani13213372>
23. Elastase, neutrophil expressed. Retrieved from <https://www.uniprot.org/uniprot/A0A286ZN14>. Accessed January 24, 2024.
24. Vizovišek, M., Vidmar, R., Fonović, M., Turk, B. (2016). Current trends and challenges in proteomic identification of protease substrates. *Biochimie*, 122, 77–87. <https://doi.org/10.1016/j.biochi.2015.10.017>
25. Degasperis, M., Sgarra, R., Mardirossian, M., Pacor, S., Maschio, M., Scocchi, M. (2022). Elastase-activated antimicrobial peptide for a safer pulmonary treatment of cystic fibrosis infections. *Antibiotics*, 11(3), Article 319. <https://doi.org/10.3390/antibiotics11030319>
26. Collagenase ColG. Retrieved from <https://www.uniprot.org/uniprotkb/Q9X721/entry>. Accessed February 6, 2024.
27. Eckhard, U., Huesgen, P. F., Brandstetter, H., Overall, C. M. (2014). Proteomic protease specificity profiling of clostridial collagenases reveals their intrinsic nature as dedicated degraders of collagen. *Journal of Proteomics*, 100, 102–114. <https://doi.org/10.1016/j.jprot.2013.10.004>
28. Cantisani, M., Finamore, E., Mignogna, E., Falanga, A., Nicoletti, G. F., Pedone, C. et al. (2014). Structural insights into and activity analysis of the antimicrobial peptide myxinidin. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 58(9), 5280–5290. <https://doi.org/10.1128/AAC.02395-14>
29. Lukinova, E. A., Kotenkova, E. A., Polischuk, E. K. (2018). Influence of approaches to isolation of animal bioactive substances on antimicrobial action. *Theory and Practice of Meat Processing*, 3(3), 27–35. <https://doi.org/10.21323/2414-438X-2018-3-3-27-35> (In Russian)
30. Korableva, E. S., Berlov, Y., Andreeva, Y. V., Kokryakov, V. N. (2007). Antimicrobial peptide from canine leukocytes: Structural-functional properties. *Vestnik of Saint Petersburg University. Series 3. Biology*, 3, 80–88. (In Russian)
31. Yuhnev, V. A., Shartukova, M. A., Lугоvkinina, N. V., Kokryakov, V. N., Shamova, O. V. (2014). Search of novel antimicrobial peptides of the cathelicidins and defensins families in moose (*Alces alces*) leucocytes. *Vestnik of Saint Petersburg University. Series 3. Biology*, 1, 115–131. (In Russian)
32. Wirnt, R. (1965). Trypsin. Chapter in a book: *Methods of Enzymatic Analysis*. Academic Press, 1965. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-395630-9.50146-8>
33. Creative Enzymes. Collagenase. Retrieved from [https://www.creative-enzymes.com/similar/collagenase\\_148.html](https://www.creative-enzymes.com/similar/collagenase_148.html). Accessed February 5, 2024.
34. Korkmaz, B., Gauthier, F. (2015). Elastase-2/Leukocyte Elastase. Chapter in a book: *Handbook of Proteolytic Enzymes*. Academic Press, 2013. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-382219-2.00587-1>
35. ExPasy. PeptideCutter. Retrieved from [https://web.expasy.org/peptide\\_cutter/](https://web.expasy.org/peptide_cutter/). Accessed February 5, 2024.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ	AUTHOR INFORMATION
<b>Принадлежность к организации</b>	<b>Affiliation</b>
<p><b>Полищук Екатерина Константиновна</b> — младший научный сотрудник, Экспериментальная клиника-лаборатория биологически активных веществ животного происхождения, ФНЦ пищевых систем им. В. М. Горбатова 109316, Москва, ул. Талалихина, 26 Тел.: +7-495-676-95-11 (доб.129) E-mail: e.politchuk@fncps.ru ORCID: <a href="https://orcid.org/0000-0003-2719-9649">https://orcid.org/0000-0003-2719-9649</a> * автор для контактов</p>	<p><b>Ekaterina K. Polishchuk</b>, Junior Researcher, Experimental Clinic — Research Laboratory of Biologically Active Substances of an Animal Origin, V. M. Gorbатов Federal Research Center for Food Systems 26, Talalikhina str., 109316, Moscow, Russia Tel.: +7-495-676-95-11 (129) E-mail: e.politchuk@fncps.ru ORCID: <a href="https://orcid.org/0000-0003-2719-9649">https://orcid.org/0000-0003-2719-9649</a> * corresponding author</p>
<p><b>Котенкова Елена Александровна</b> — кандидат технических наук, старший научный сотрудник, Экспериментальная клиника- лаборатория биологически активных веществ животного происхождения, Федеральный научный центр пищевых систем им. В. М. Горбатова 109316, Москва, ул. Талалихина, 26 Тел.: +7-495-676-92-11 (доб.129) E-mail: lazovlena92@yandex.ru ORCID: <a href="https://orcid.org/0000-0003-1864-8115">https://orcid.org/0000-0003-1864-8115</a></p>	<p><b>Elena A. Kotenkova</b>, Candidate of Technical Sciences, Senior Researcher, Experimental Clinic — Research Laboratory of Biologically Active Substances of an Animal Origin, V. M. Gorbатов Federal Research Center for Food Systems 26, Talalikhina str., 109316, Moscow, Russia Tel.: +7-495-676-92-11 (129) E-mail: lazovlena92@yandex.ru ORCID: <a href="https://orcid.org/0000-0003-1864-8115">https://orcid.org/0000-0003-1864-8115</a></p>
<b>Критерии авторства</b>	<b>Contribution</b>
<p>Концептуализация — <b>Котенкова Е. А., Полищук Е. К.</b> Проведение исследования — <b>Полищук Е. К.</b> Методология — <b>Котенкова Е. А., Полищук Е. К.</b> Курирование данных — <b>Котенкова Е. А.</b> Написание статьи — <b>Полищук Е. К.</b> Написание статьи (просмотр и редактирование) — <b>Котенкова Е. А.</b></p>	<p>Conceptualization — <b>Kotenkova E. A., Polishchuk E. K.</b> Investigation — <b>Polishchuk E. K.</b> Methodology — <b>Kotenkova E. A., Polishchuk E. K.</b> Data curation — <b>Kotenkova E. A.</b> Writing (original draft) — <b>Polishchuk E. K.</b> Writing (review and editing) — <b>Kotenkova E. A.</b></p>
<b>Конфликт интересов</b>	<b>Conflict of interest</b>
Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.	The authors declare no conflict of interest.

DOI: <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2024-7-1-137-143>



Received 13.09.2023

Accepted in revised 23.03.2024

Accepted for publication 26.03.2024

© Ammar A. S.M., El-Zeiny M.G., Al-Turki A.I., 2024

Available online at <https://www.fsjour.com/jour>

Original scientific article

Open access

## CHEMICAL AND MICROBIOLOGICAL ASSESSMENT OF HOUSE-FILTERED WATER PRODUCED BY HOUSEHOLD WATER FILTRATION SYSTEMS

Abdalla S. M. Ammar<sup>1,3,\*</sup>, Mohamed G. El-Zeiny<sup>2,3</sup>, Ahmad I. Al-Turki<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Faculty of Agriculture, Cairo University, Giza, Egypt

<sup>2</sup> Faculty of Agriculture, Alexandria University, Alexandria, Egypt

<sup>3</sup> College of Agriculture and Veterinary Medicine, Qassim University, Saudi Arabia

### KEY WORDS:

House-water filters, filtered water, chemical and microbiological quality, water safety

### ABSTRACT

Chemical characteristics and microbiological quality of filtered water generated from municipal water using mono-, di- and penta-stage (5-stage) filters, as well as disposed drain water were investigated. With the application of the household water penta filters, the total dissolved solids (TDS) of the filtered water were highly reduced (0.04–0.07 g/L) and, consequently, electrical conductivity also decreased. Furthermore, total hardness was completely removed (0–2 mg CaCO<sub>3</sub>/L), as well as the chloride content. In the same manner, the nitrate content in the filtered water resulted from the household water penta filters decreased significantly (0.5–0.9 mg/L). Cations, such as Na<sup>+</sup> and K<sup>+</sup>, in the filtered water were greatly affected and were 18–28 and 2 mg/L, respectively. Filtered water generated from the house-water penta filters was not in compliance with the daily amounts of F, Na and K necessary for teenagers and kids, and it might cause a risk of deficiencies. From the microbiological point of view, the penta-stage filter effectively removed total bacterial counts and total coliforms from water making it completely safe for potable and other domestic uses. The home water mono- and di- filters had low effectiveness of contaminant removal.

FUNDING: This study has been financially supported by Deanship of Scientific Research, Al-Qassim University, Al-Qassim, Saudi Arabia under grant No. SR-D-009-023

ACKNOWLEDGEMENTS: The authors thank Deanship of Scientific Research, Al-Qassim University, Al-Qassim, Saudi Arabia, for financial support.

Поступила 13.09.2023

Поступила после рецензирования 23.03.2024

Принята в печать 26.03.2024

© Аммар А. С. М., Эль-Зини М. Г., Аль-Турки А. И., 2024

<https://www.fsjour.com/jour>

Научная статья

Open access

## ХИМИЧЕСКАЯ И МИКРОБИОЛОГИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА ФИЛЬТРОВАННОЙ ВОДЫ, ПОЛУЧЕННОЙ С ПОМОЩЬЮ ДОМАШНИХ СИСТЕМ ФИЛЬТРАЦИИ ВОДЫ

Аммар А. С. М.<sup>1,3,\*</sup>, Эль-Зини М. Г.<sup>2,3</sup>, Аль-Турки А. И.<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Сельскохозяйственный факультет, Каирский Университет, Гиза, Египет

<sup>2</sup> Сельскохозяйственный факультет, Александрийский университет, Александрия, Египет

<sup>3</sup> Колледж сельского хозяйства и ветеринарной медицины, Университет Кассим, Саудовская Аравия

### КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: АННОТАЦИЯ

домашние фильтры воды, фильтрованная вода, химическое и microbiологическое качество, безрепутность воды

Поведено исследование химических характеристик и microbiологических показателей фильтрованной воды, полученной из муниципальной воды с использованием одно-, двух- и пяти-стадийных фильтров, а также удаляемой сточной воды. При применении домашних пяти-стадийных фильтров, общее количество растворённых в воде веществ (TDS) в фильтрованной воде было существенно снижено (0,04–0,07 г/л) и, следовательно, также была снижена электропроводность. Кроме того, общая жесткость была полностью удалена (0–2 мг CaCO<sub>3</sub>/л), также как и содержание хлоридов. Аналогичным образом, содержание нитратов в фильтрованной воде, полученной от домашних пяти-стадийных фильтров воды, значительно уменьшилось (0,5–0,9 мг/л). Большое влияние было оказано на катионы в фильтрованной воде, такие как Na<sup>+</sup> и K<sup>+</sup>, которые были на уровне 18–28 и 2 мг/л, соответственно. Фильтрованная вода, полученная от домашних пяти-стадийных фильтров воды, не соответствовала суточным количествам F, Na и K, необходимым подросткам и детям, что может представлять риск дефицита. С microbiологической точки зрения домашние пяти-стадийные фильтры воды эффективно удаляли общие количества бактерий и общие колиформы из воды, что делало её полностью безопасной для питья и другого домашнего использования. Домашние одно- и двух-стадийные фильтры воды имели низкую эффективность удаления контаминантов.

ФИНАНСИРОВАНИЕ: Данное исследование было финансово поддержано деканатом научных исследований, Университет Кассим, Эль-Кассим, Саудовская Аравия, грант No. SR-D-009-023.

БЛАГОДАРНОСТИ: Авторы выражают благодарность деканату научных исследований, Университет Кассим, Эль-Кассим, Саудовская Аравия, за финансовую поддержку.

### 1. Introduction

Water, the source of life, is one of the main fuels for economic and social development. Water is subject to different pollution sources, i. e., domestic, industrial and agricultural wastes, and becomes contaminated with pollutants beyond safe limits for use by humans. The point-of-use

(POU) and point-of-entry (POE) filtration systems are commonly used to remove or at least reduce the contaminants to safe levels. US-EPA [1] defined POU as a filtration system connected to one tap or more taps to treat water for human purposes (drinking and cooking), while POE are devices fixed to the main water line to treat all water for a single house,

FOR CITATION: Ammar, A. S. M., El-Zeiny, M. G., Al-Turki, A. I., (2024). Chemical and microbiological assessment of house-filtered water produced by household water filtration systems. *Food Systems*, 7(1), 137–143. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2024-7-1-137-143>

ДЛЯ ЦИТИРОВАНИЯ: Аммар, А. С. М., Эль-Зини, М. Г., Аль-Турки, А. И. (2024). Химическая и microbiологическая оценка фильтрованной воды, полученной с помощью домашних систем фильтрации воды. *Пищевые системы*, 7(1), 137–143. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2024-7-1-137-143>

hospital, restaurant and commercial building. Therefore, POU drinking water treatment is rising quickly due to the high risk of exposure to various contaminants in drinking water [2]. Household water filtration systems have recently been used in many houses to enhance the potable water quality [3]. Home water filters have become a new market that has been discovered by manufacturers to improve drinking water quality and remove contaminants from water [4]. Asia is expected to be the largest market for POU devices in the coming decades, followed by the United States and Canada, then by Europe [5]. The performance of POU activated carbon block filters in removing Pb contents was tested by Bosscher et al. [6]. They found that activated carbon filters were very effective in removing soluble Pb from tap water. It is reported that home water purification systems significantly decreased the fluoride concentration in purified water, which became as low as zero in some cases [7].

The main physicochemical characteristics affecting contaminant removal from water using filtration systems can be summarized as follows [8,9,10]: pore size, presence of surface charges (molecular charges and/or membrane charges), particle size and surface area, adsorption affinity, differences in concentrations (ionic strength), pressure, water temperature, water pH and osmotic pressure.

Household filtration systems have proved to separate a lot of pollutants [11]. Due to its ability to absorb a variety of contaminants found in water, activated carbon is a material that is frequently used in water filtration systems [12,13]. Activated carbon is a multifunctional porous adsorbent material (hydrophobic and lipophilic) and has a large surface area and adsorption affinity where contaminants are attracted and attached to the particle surface by Van der Waals forces and/or chemical adsorption. There are two types of activated carbon: granulated activated carbon and block activated carbon. Block carbon has smaller particles and smaller pore size than granular activated carbon [10]. The mean particle size of the commercial powdered activated carbon adsorbent ranges between 1 and 150  $\mu\text{m}$  and surface area ranges from 736 to 2869  $\text{m}^2/\text{g}$ . Although trace organic and inorganic pollutants are adsorbed to the pores and surfaces of the activated carbon [9], limited numbers of contaminants will be eliminated. A reverse osmosis (RO) filter contains the semipermeable membrane between two phases. Ions and biomolecules can be separated from water through the semipermeable membrane using higher external pressure than the osmotic pressure; water is forced to move against the osmosis phenomenon [10].

The general public is aware of the fact that drinking water safety and quality remain to be a major public health concern [14]. Thus, household water filtration systems are commonly used in rural and urban regions in Saudi Arabia for ensuring water safety and quality. Although there are local and international organizations (i. e. NSF International) that develop public health standards for products, filters have no strict scientific evidence for continuous use, effectiveness, positive health effects, and negative impacts. Also, all cations and anions, regardless of whether they are beneficial or harmful, are removed from water treatment devices due to the absence of a selective removal system [15]. Research on how domestic house water filters affect the quality of water is currently lacking. Therefore, the objectives of this study were to determine the physical (i. e., total dissolved solids, electrical conductivity), chemical (i. e., total hardness,

chlorides, anions, cations) and microbiological (i. e., total count, total coliforms, fecal coliforms, mold and yeast) properties of filtered water obtained from house water filters (mono-, di- and penta-filter systems) as well as chemical and physical properties of drain water.

## 2. Materials and methods

### 2.1. Plan of the study

A model of a water purification system was designed at a pilot scale to resemble a household system. Domestic household water purification systems included mono (1 stage), di (2 stages) and penta (5 stages) filters with the inlet connected to city tap water and the outlet connected to 500-liter capacity polypropylene tanks. Filters and tanks were purchased from Buraidah, KSA local markets (Figure 1 and Figure 2).

### 2.2. Filter specifications

House water filters used in this study included:

- Mono-filter containing one stage of high efficiency polypropylene (pp) filter. A polypropylene filter is capable of filtering down to five microns (i. e. silt, scales, sediments, coarse and fine sands),
- Di-filter comprising of two-stages: the pp sediment filter and the second-stage carbon block filter (reduces cloudiness, volatile organic carbons,  $\text{Cl}_2$ , organics, off-odors and unusual tastes) and
- Penta-filtration system (5-stage filter) containing three pre-filters (pp, carbon block and granular activated carbon filters) to remove large contaminants and protect reverse osmosis (RO) membrane, the RO-filter to remove contaminants, metals and salts, and in the last stage, there is the fine granular activated carbon (GAC) filter to provide final polishing to the purified water.

All solvents and chemicals used in analysis were of analytical grade and purchased from Sigma-Aldrich (Missouri, USA). Microbiological media (SPC, VRB-MUG and PDA) were bought from Biolife (Milan, Italy).

### 2.3. Sampling

Water samples were collected according to the WHO recommendations and the Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater as reported by APHA, AWWA and WPCF [16]. Filtered water samples were collected in sterile two-liter glass bottles. All sample bottles were kept refrigerated ( $4^\circ\text{C}$ ) during transport to the lab inside an insulated ice box. Microbiological samples were withdrawn under sterilized conditions and the rest of the samples were kept for physical and chemical analyses. Microbiological analyses were done at the same day of sampling, while chemical analyses were performed within 24 h of sampling.

To simulate the practical uses in a household, samples were withdrawn from water purification filters (mono, di and penta) immediately after filtration (A-F) in a quantity of 100, 200, 300, 400 and 500 liters in sterile bottles and kept under refrigeration ( $4^\circ\text{C}$ ) until microbiological analysis within 24 hrs. Control samples were withdrawn directly from tap water without filtration. Duplicated samples were withdrawn as mentioned previously and refrigerated ( $4^\circ\text{C}/24\text{ h}$ ) for chemical analyses. Samples were taken from the drain line of the penta-filter (this line runs from the outlet end of the RO membrane to the drain and is used to discharge contaminants and impurities found in the incoming water source).



Figure 1. House water mono, di and penta filters used in the experiments

Рисунок 1. Домашние одно-, двух- и пяти-стадийные фильтры для воды, использованные в экспериментах



Figure 2. House water penta filter used in the experiments

Рисунок 2. Домашний пяти-стадийный фильтр, использованный в экспериментах

## 2.4. Analysis

Chemical tests were carried out according to the Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater [16] as follows:

- Total dissolved solids (TDS) and electrical conductivity (EC) were determined using a conductivity/TDS meter (TDS meter, Model 76, Engineered systems and Designs, USA).
- Total hardness (Ca + Mg) was determined using titration with ethylene diamine tetra acetic acid disodium ( $\text{Na}_2\text{EDTA}$ ) in the presence of eriochrome black T as an indicator.
- Chloride determination was done by titration with 0.0141 N silver nitrate in the presence of potassium chromate as an indicator.
- Nitrates were determined by a spectrophotometer (Jenway, USA) using NED dihydrochloride N-(1-naphthyl)-ethylenediamine dihydrochloride.
- Fluorides were determined colorimetrically by using the SPADNS method (4,5 dihydroxy-3-(p-sulfophenylazo)-2,7-naphthalenedisulfonic acid trisodium salt).
- Sodium and potassium were determined using an atomic absorption spectrophotometer (AAS) (Shimadzu 6800, Japan). Required standards of Na and K were prepared daily by appropriate dilution of the stock solution.

Microbiological analyses included total bacterial counts (filtration method, ISO 6222:1999) [17] using the Aerobic Standard Plate Count Agar medium and incubation at  $37 \pm 1^\circ\text{C}$  for 24h. The membrane filtration method was used to determine the total coliform group using the VRB-MUG medium (incubation at  $37 \pm 1^\circ\text{C}$  for 24h) and fecal coliform according to ISO 9308-1 [18] using the VRB-MUG medium (incubation at  $44 \pm 1^\circ\text{C}$  for 24h), and yeast and mold counts [19] using the Potato Dextrose Agar medium and incubation at  $25 \pm 1^\circ\text{C}$  for 72 h.

## 2.5. Statistical analyses

Data were statistically analyzed using one-way analysis of variance, ANOVA [20].

## 3. Results and discussion

In the present study, physical, chemical and microbiological characteristics of the filtered water resulted from the household water filters (either mono, di or penta filters) were determined to evaluate its suitability for potable and industrial uses. Fresh filtered water should not contain health hazards, such as pathogens, toxic chemicals and carcinogenic compounds, during its direct consumption as drinking water or as industrial use.

### 3.1. Physical properties of the filtered water

Physical characteristics of the filtered water, i. e. total dissolved solids (TDS) and electrical conductivity (EC), were determined as presented in Figure 3 and Figure 4.

The results shown in Figure 3 indicate that physical characteristics of the filtered water varied according to the house water filter type used to produce the filtered water. The TDS values of raw water samples (control) ranged between 1.42 and 1.49 g/L. The TDS of the filtered water slightly decreased due to treatment processes via house water mono and di filters. The TDS values of the filtered water resulted from the

house water mono filters ranged from 1.27 to 1.49 g/L. Likewise the TDS values of the filtered water obtained from the house water di filters were between 1.30 and 1.48 g/L. Using the house water penta filters highly reduced TDS of the filtered water. The TDS levels ranged between 0.04 and 0.07 g/L. Thus, using the house water penta filter had a significant ( $P < 0.05$ ) positive effect on TDS values in the filtered water. Recently, Khanal et al. [21] reported that only RO-UV led to a significant reduction of TDS levels resulting in the average and maximum removal rates of 73.8 and 97.8%, respectively. The obtained TDS values of the filtered water were within the allowed limits (1000 mg/L) required by the Egyptian Standards [22].

The results presented in Figure 4 show the electrical conductivity values of the filtered water. The EC values of the filtered water resulted from the house water mono or di filters were slightly affected (812.8–972.2 mmhos/cm) compared to the control water samples (908.8–953.6 mmhos/cm). On the other hand, the EC values highly decreased in the filtered water obtained from the house water penta filters (25.6–44.8 mmhos/cm). EC is a measure of the anions and cations present in water samples, the conductivity increases with an increase in the ion content [23]. EC values significantly ( $P < 0.05$ ) and highly decreased in the filtered water obtained from the house water penta filters. The EC values are in agreement with those found by Al-Oud et al. [24] and Królak et al. [3].

### 3.2. Chemical characteristics of the filtered water

Chemical characteristics of the filtered water i. e., total hardness, nitrates, chlorides, cations, and anions were determined.

#### 3.2.1. Effect of the home water filters on total hardness (TH) and total chlorides

The results presented in Figure 5 show water hardness values in the filtered water obtained from the house water filters. Total hardness of the filtered water was slightly affected by using the house water mono or di filters (213–233 mg  $\text{CaCO}_3/\text{L}$ ) compared to the water control samples (233 mg  $\text{CaCO}_3/\text{L}$ ). Total hardness was completely removed in the filtered water resulted from the house water penta filters (0–2 mg  $\text{CaCO}_3/\text{L}$ ). The sources of TH in water are dissolved ions from rocks, seepage, and runoff from soils [23]. It is of interest to report that there were significant differences ( $p < 0.05$ ) between TH values in the filtered water resulted from the penta filters and mono and di filters. These results are in agreement with those obtained by Jaafari-Ashkavandi and Kheirmand [25] and Królak et al. [3]. Generally, TH of the filtered water withdrawn from different types of the house water filters was within the permissible limits (500 mg/l) required by Egyptian Standards [22].

It can be noticed from the results in Figure 6 that the chloride content of the filtered water obtained from the house water mono or di filters ranged from 186.9 to 207.4 mg/L. The chloride content of the filtered water resulted from the house water penta filters was completely removed. Using the house water penta filter had a significant ( $P < 0.05$ ) positive effect on the chloride content in the filtered water (Figure 6). These results are in agreement with those reported by Królak et al. [3].

The obtained chloride content of the filtered water was found to be within the permissible limits (250 mg/L) required by Egyptian Standards [22].

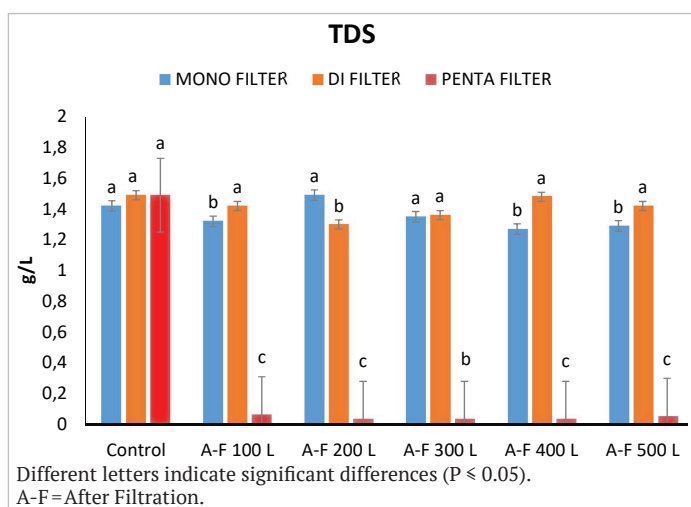


Figure 3. Effect of the home water filters on TDS (g/L) in the filtered water

Рисунок 3. Влияние домашних фильтров для воды на TDS (г/л) в фильтрованной воде

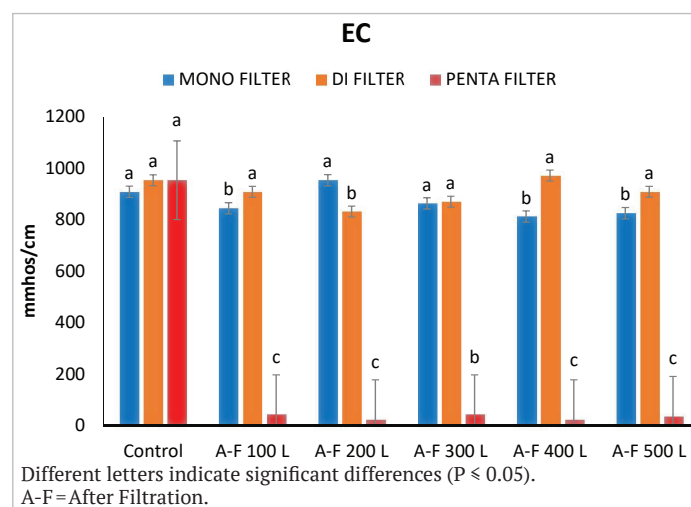
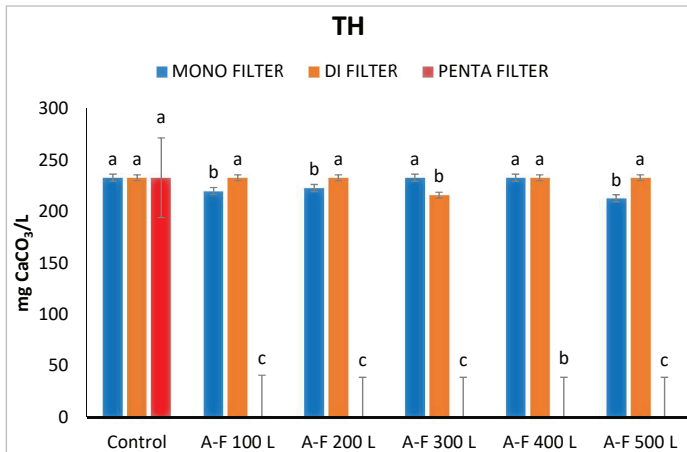


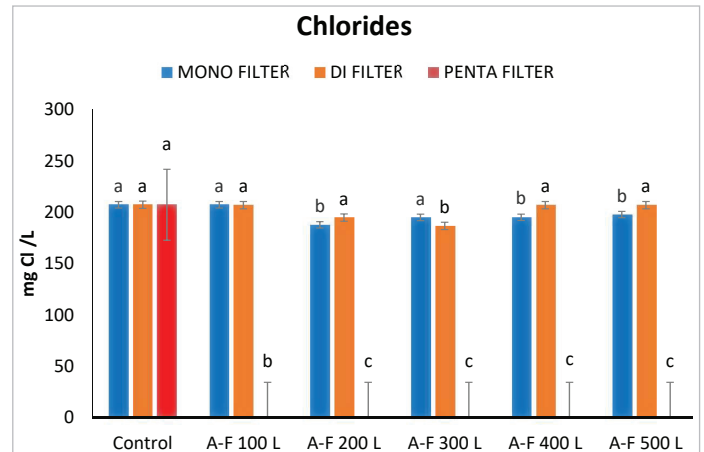
Figure 4. Effect of the home water filters on EC (mmhos/cm) in the filtered water

Рисунок 4. Влияние домашних фильтров для воды на электропроводность (мкО/см) в фильтрованной воде



Different letters indicate significant differences ( $P \leq 0.05$ ). A-F = After Filtration.

Figure 5. Effect of the home water filters on total hardness (mg CaCO<sub>3</sub>/L) in the filtered water  
Рисунок 5. Влияние домашних фильтров для воды на общую жесткость (мг CaCO<sub>3</sub>/л) в фильтрованной воде



Different letters indicate significant differences ( $P \leq 0.05$ ). A-F = After Filtration.

Figure 6. Effect of the home water filters on the total chloride content (mg Cl/L) in the filtered water  
Рисунок 6. Влияние домашних фильтров для воды на содержание общих хлоридов (мг Cl/л) в фильтрованной воде

3.2.2. Effect of the home water filters on anions and cations

It can be noticed from Figure 7 that the nitrate content of the filtered water resulted from the house water mono filter ranged from 1.20 to 1.80 mg/L. The nitrate content slightly decreased in the filtered water after using the house water mono filter compared to the control samples. Also, the house water di filter did not affect the nitrate content of the produced water (Figure 7). The nitrate content of the filtered water resulted from the house water penta filters (Figure 7) was significantly ( $P \leq 0.05$ ) and highly reduced (0.5–0.9 mg/L) compared to the control water samples (2.2 mg/L). Reverse osmosis is a physicochemical process that is highly practical for removing nitrate [15]. These results are in agreement with those reported by Królak et al. [3]. JECFA [26] and Commission Regulation [27] established the Acceptable Daily Intake of NO<sub>3</sub> ranged from 0 to 3.7 mg/kg body weight. The recorded values of nitrates were within the allowed and recommended levels according to Egyptian standards (45 mg/L) [22] and WHO guidelines (50 mg/L) [28] indicating relevant safety of such water as reported by Al-Redhaiman and Abdel Magid [29].

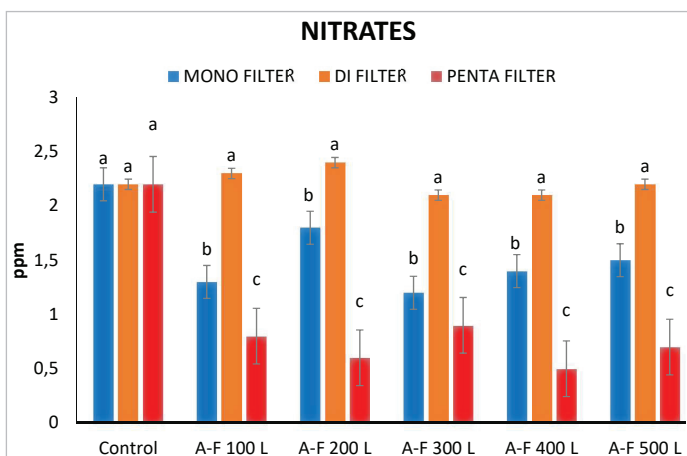
The fluoride content in the filtered water obtained from the house water filters is shown in Figure 8. The fluoride content in the filtered water obtained from the house water mono filters was found to be similar to its level in the control water samples (0.18 and 0.23 mg/L). Likewise, the house water di filters did not affect the fluoride content in the filtered water (0.21–0.25 mg/L). On the contrary, the fluoride content in the filtered water produced using the house water penta filters was highly affected (0.04–0.08 mg/L) compared to the control water samples (0.23 mg/L). Using the house water penta filter had a significant ( $P \leq 0.05$ ) negative effect on the fluoride content in the filtered water. Also, Jaafari-Ashkavandi

and Kheirmand [25] and Eftekhar et al. [7] reported that the filtration of water using home water purification systems significantly decreased its fluoride content. These recorded results are lower than those required by Egyptian Standards (0.8 mg/L) [22] and the WHO guidelines (1.5 mg/L) [28] for drinking water.

Generally, water contains different types of cations, i. e. Ca, Mg, Na and K, in varying amounts [30]. Among the salts that are crucial to the flavor of water are sodium and potassium [15]. The results in Figures 9 and 10 show the content of cations Na<sup>+</sup> and K<sup>+</sup>, respectively, in the filtered water as affected by using the household water filters. It can be concluded that using the house water mono or di filters led to the slightly decreased cation contents. On the contrary, cations, i. e. the Na<sup>+</sup> and K<sup>+</sup> contents, in the filtered water were greatly affected by using the house water penta filter. The Na<sup>+</sup> and K<sup>+</sup> contents were 18–28 and 2 mg/L, respectively, in the filtered water generated from the house water penta filter. Thus, using the house water penta filter had a significant ( $P \leq 0.05$ ) negative effect on the Na<sup>+</sup> and K<sup>+</sup> contents in the filtered water. The obtained Na values of the filtered water were within the allowed limits required by the Egyptian Standards (200 mg/L) [22] and the WHO guidelines (50 mg/L) [28] for drinking water.

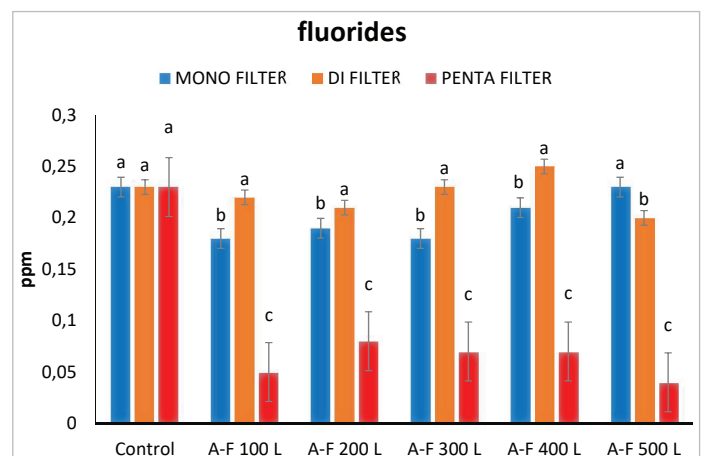
3.2.3. Physical and chemical characteristics of drain water resulted from the home water penta filters

Drain water runs from the outlet end of the RO membrane hosing to the sewer system. It contains salts, contaminants and impurities found in the incoming water source. Drain water resulted from the house water penta filters was physically and chemically evaluated (Table 1). Drain wa-



Different letters indicate significant differences ( $P \leq 0.05$ ). A-F = After Filtration.

Figure 7. Effect of the home water filters on the nitrate content (ppm) in the filtered water  
Рисунок 7. Влияние домашних фильтров для воды на содержание нитратов (ppm) в фильтрованной воде



Different letters indicate significant differences ( $P \leq 0.05$ ). A-F = After Filtration.

Figure 8. Effect of the home water filters on the fluoride content (ppm) in the filtered water  
Рисунок 8. Влияние домашних фильтров для воды на содержание фторидов (ppm) в фильтрованной воде

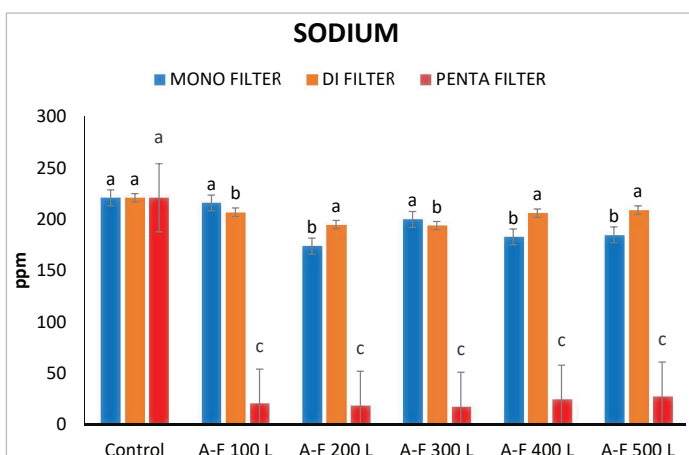


Figure 9. Effect of the home water filters on the sodium content (ppm) in the filtered water

Рисунок 9. Влияние домашних фильтров для воды на содержание натрия (ppm) в фильтрованной воде

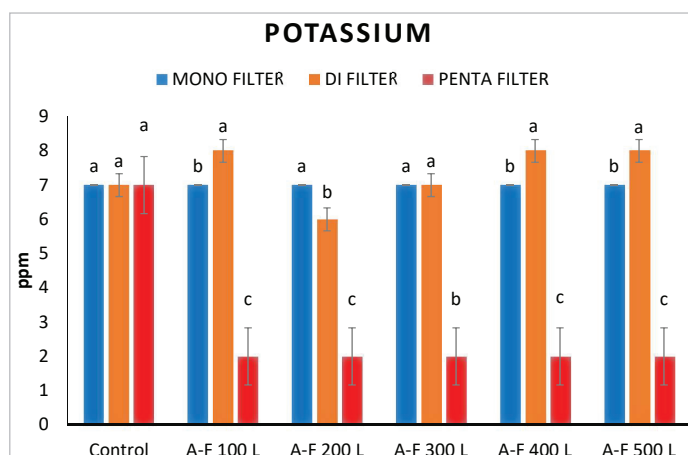


Figure 10. Effect of the home water filters on the potassium content (ppm) in the filtered water

Рисунок 10. Влияние домашних фильтров для воды на содержание калия (ppm) в фильтрованной воде

ter disposed from the house water penta filter ranged from 15 to 18 liters per 100 liters from incoming water. Drain water became hard water, which had total hardness ranged between 330 and 332 mg CaCO<sub>3</sub>/L. Furthermore, it contained the high chloride concentration being 349 mg/L. Also, TDS increased in drain water (1.98 g/L) compared to the control water samples (1.49 g/L). Likewise, drain water had higher EC values (1267.2 mmhos/cm) than those reported in the control water samples.

Table 1. Physical and chemical characteristics of drain water resulted from the home water penta filters

Таблица 1. Физические и химические характеристики сточной воды, полученной от домашних пяти-стадийных фильтров

Sample	Drain water/100L	TH (mg CaCO <sub>3</sub> /L)	Cl <sup>-</sup> (ppm)	TDS (g/L)	EC (mmhos/cm)
A-F 100 L	18	330	349.8	1.98	1267.2
A-F 200 L	18	332	349	1.98	1267.2
A-F 300 L	15	331	349	1.98	1267.2
A-F 400 L	15	330	349.5	1.98	1267.2
A-F 500 L	15	330	349.5	1.98	1267.2

A-F= After Filtration.

### 3.3. Microbiological characteristics of the filtered water

#### 3.3.3. Effect of the home water filters on total counts, coliform, fecal coliform and yeast and mold counts

It is very clear that the microbiological examination of water is greatly important to assure its safety for potable and /or industrial uses. Therefore, the filtered water obtained from the house water filters was microbiologically examined for its total bacterial counts, total coliform, fecal coliform and yeast and mold counts in water samples withdrawn from different types of house water filters. The obtained results are presented in Tables 2, 3 and 4, which show that the filtered water resulted from all studied house water filters was completely free from yeast, molds and fecal coliforms. Total bacterial counts (at 37 °C) ranged between 3.0 × 10<sup>3</sup> and 2.9 × 10<sup>4</sup>, 9.3 × 10<sup>2</sup> and 3.3 × 10<sup>4</sup> CFU/ml in the filtered water resulted from the home water mono filters and di filters, respectively. Total coliforms ranged from 7.7 × 10<sup>2</sup> to 3.0 × 10<sup>3</sup> and 3.8 × 10<sup>2</sup> to 8.4 × 10<sup>3</sup> CFU/ml in the filtered water resulted from the home water mono filters and di filters, respectively. It can be concluded that total bacterial counts and total coliforms were slightly affected by using the home water mono filters and di filters. The results in Table 4 indicate that the house water penta filters totally removed the bacterial population, including total counts and total coliforms, from the produced water making it completely safe for potable and other uses. Consequently, to assure continuous safety of such water, house water penta filters should be used. The most effective method for improving water quality parameters is the reverse osmosis membrane purification system with five-stage filter media [31]. Generally, total bacterial counts and total coliforms in filtered water produced from the home water mono and di filters were higher than the allowed levels required by the Egyptian Standards (50 and 0 CFU/100 ml, respectively) [22], and the WHO guidelines [28] (0 CFU/100 ml) for total coliforms and fecal coliforms.

Table 2. Effect of the home water mono filters on total counts, coliform, fecal coliform and yeast and mold counts (CFU/ml) in the filtered water

Таблица 2. Влияние домашних одно-стадийных фильтров на общие количества, количества колиформных бактерий, фекальных колиформных бактерий, дрожжей и плесеней (КОЕ/мл) в фильтрованной воде

Sample	Total counts	Total coliforms	Fecal coliforms	Yeast and mold
Control	3.0 × 10 <sup>4</sup>	2.8 × 10 <sup>4</sup>	Nil	Nil
A-F 100 L	4.7 × 10 <sup>3</sup>	7.9 × 10 <sup>2</sup>	Nil	Nil
A-F 200 L	3.0 × 10 <sup>3</sup>	2.1 × 10 <sup>3</sup>	Nil	Nil
A-F 300 L	2.8 × 10 <sup>4</sup>	3.0 × 10 <sup>3</sup>	Nil	Nil
A-F 400 L	2.9 × 10 <sup>4</sup>	8.4 × 10 <sup>2</sup>	Nil	Nil
A-F 500 L	2.8 × 10 <sup>4</sup>	7.7 × 10 <sup>2</sup>	Nil	Nil

A-F= After Filtration.

Table 3. Effect of the home water di filters on total counts, coliform, fecal coliform and yeast and mold counts (CFU/ml) in the filtered water

Таблица 3. Влияние домашних двух-стадийных фильтров на общие количества, количества колиформных бактерий, фекальных колиформных бактерий, дрожжей и плесеней (КОЕ/мл) в фильтрованной воде

Sample	Total counts	Total coliforms	Fecal coliforms	Yeast and mold
Control	3.4 × 10 <sup>4</sup>	2.5 × 10 <sup>4</sup>	Nil	Nil
A-F 100 L	3.3 × 10 <sup>4</sup>	8.4 × 10 <sup>3</sup>	Nil	Nil
A-F 200 L	5.3 × 10 <sup>3</sup>	8.2 × 10 <sup>2</sup>	Nil	Nil
A-F 300 L	1.8 × 10 <sup>3</sup>	3.8 × 10 <sup>2</sup>	Nil	Nil
A-F 400 L	1.8 × 10 <sup>3</sup>	8.4 × 10 <sup>2</sup>	Nil	Nil
A-F 500 L	9.3 × 10 <sup>2</sup>	7.0 × 10 <sup>2</sup>	Nil	Nil

A-F= After Filtration.

Table 4. Effect of the home water penta filters on total counts, coliform, fecal coliform and yeast and mold counts (CFU/ml) in the filtered water

Таблица 4. Влияние домашних пяти-стадийных фильтров на общие количества, количества колиформных бактерий, фекальных колиформных бактерий, дрожжей и плесеней (КОЕ/мл) в фильтрованной воде

Sample	Total counts	Total coliforms	Fecal coliforms	Yeast and mold
Control	3.4 × 10 <sup>4</sup>	2.5 × 10 <sup>4</sup>	Nil	Nil
A-F 100 L	Nil	Nil	Nil	Nil
A-F 200 L	Nil	Nil	Nil	Nil
A-F 300 L	Nil	Nil	Nil	Nil
A-F 400 L	Nil	Nil	Nil	Nil
A-F 500 L	Nil	Nil	Nil	Nil

A-F= After Filtration.

#### 4. Conclusions

It can be concluded from the above-mentioned results that the penta filter used in the present study showed good purification capability of removing TDS, EC, TH, chlorides, nitrates, total bacterial counts and coliforms from water. On the contrary, the home water mono and di filters exhibited low effectiveness of contaminant removal. Therefore, consumers who primarily drink filtered water resulted from home water penta filters minimize risk of exposure to nitrates, heavy metals and microorganisms due to the presence of reverse osmosis, which has proven to be the most valid and effective technique to eliminate

almost all contaminants. On the other hand, although this device has benefits in many cases, filtered water generated from those filters may pose an increased risk of deficiencies in F, Na, K and Mg for people. These elements are very important for the human body and their levels in filtered water can be lower than permissible limits set by local and international standards. Therefore, people should consume them from other food sources or use re-mineralization techniques to increase the nutrient content of filtered water. Drain water disposed from the house water penta filter contained high concentrations of contaminants and it needs further studies.

#### REFERENCES

- EPA: United States Environmental Protection Agency (2006). Investigation of the Capability of Point-of-Use/Point-of-Entry Treatment Devices as a Means of Providing Water Security. EPA/600/R-06/012. Retrieved from [http://www.aquanetto.ch/data/documents/ressources/EPA\\_PointofUsePointofEntry.pdf](http://www.aquanetto.ch/data/documents/ressources/EPA_PointofUsePointofEntry.pdf) Accessed August 19, 2023
- Wu J., Cao M., Tong D., Finkelstein Z., Hoek E. M.V. (2021). A critical review of point-of-use drinking water treatment in the United States. *npj Clean Water*, 4, Article 40. <https://doi.org/10.1038/s41545-021-00128-z>
- Królak, E., Raczuk, J., Biardzka, E. (2015). Do water filters improve the quality of potable water? *Journal of Elementology*, 20(1), 149–159. <https://doi.org/10.5601/jelem.2013.18.4.541>
- Daschner, F.D., Rtiden, H., Simon R., Clotten, J. (1996). Microbiological contamination of drinking water in a commercial household water filter system. *European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*, 15(3), 233–237. <https://doi.org/10.1007/BF01591360>
- March H., Garcia X., Domene E., Sauri D. (2020). Tap water, bottled water or in-home water treatment systems: Insights on household perceptions and choices. *Water*, 12(5), Article 1310. <https://doi.org/10.3390/w12051310>
- Bosscher, V., Lytle, D.A., Schock, M.R., Porter, A., Del Toral, M. (2019). POU water filters effectively reduce lead in drinking water: A demonstration field study in flint, Michigan. *Journal of Environmental Science and Health, Part A*, 54(5), 484–493. <https://doi.org/10.1080/10934529.2019.1611141>
- Eftekhari, B., Skini, M., Shamohammadi, M., Ghaffaripour, J., Nilchian, F. (2015). The effectiveness of home water purification systems on the amount of fluoride in drinking water. *Journal of Dentistry, Shiraz University of Medical Science*, 16(3 Suppl), 278–281.
- Smith, S.C., Rodrigues, D.F. (2015). Carbon-based nanomaterials for removal of chemical and biological contaminants from water: A review of mechanisms and applications. *Carbon*, 91, 122–143. <http://doi.org/10.1016/j.carbon.2015.04.043>
- Sangkarak, S., Phetrak, A., Kittipongvises, S., Kitkaew, D., Phiphusut, D., Lohwacharin, J. (2020). Adsorptive performance of activated carbon reused from household drinking water filter for hexavalent chromium-contaminated water. *Journal of Environmental Management*, 272, Article 111085. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2020.111085>
- Singh, S.P., Agarwal, A.K., Gupta, T., Maliyekkal, S.M. (2022). New trends in emerging environmental contaminants. Springer Nature Singapore, 2022. <https://doi.org/10.1007/978-981-16-8367-1>
- Alsulaili, A., Al-Harbi, M., Elsayed, K. (2020). The influence of household filter types on quality of drinking water. *Process Safety and Environmental Protection*, 143, 204–211. <https://doi.org/10.1016/j.psep.2020.06.051>
- Wright, J., Gundry, S., Conroy, R. (2004). Household drinking water in developing countries: A systematic review of microbiological contamination between source and point-of-use. *Tropical Medicine and International Health*, 9(1), 106–117. <https://doi.org/10.1046/j.1365-3156.2003.01160.x>
- Mecha, C. A., Pillay, V. L. (2014). Development and evaluation of woven fabric microfiltration membranes impregnated with silver nanoparticles for potable water treatment. *Journal of Membrane Science*, 458, 149–156. <https://doi.org/10.1016/j.memsci.2014.02.001>
- Masoumi, S.J., Haghkhah, M., Mehrabani, D., Ghasempour, H.R., Esmaelnejad, Z., Ghafari, N. et al. (2013). Quality of drinking water of household filter systems in Shiraz, Southern Iran. *Middle-East Journal of Scientific Research*, 17(3), 270–274. <https://doi.org/10.5829/idosi.mejsr.2013.17.03.74121>
- Pourjamali, R., Sadrabad, E.K., Hashemi S. A., Shekofteh, H., Mokhtari, M., Heydari, A. et al. (2018). Evaluation of point-of-use drinking water treatment systems efficiency in reducing or removing physicochemical parameters and heavy metals. *Journal of Environmental Health and Sustainable Development*, 3(4), 557–566. <https://doi.org/10.18502/jehsd.v4i1.490>
- APHA, AWWA, WPCF (1985). Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. Sixteenth Edition. Port city press, Baltimore, Maryland, USA, 1985.
- ISO 6222 Water quality – Enumeration of culturable micro-organisms – Colony count by inoculation in a nutrient agar culture medium (DS/EN ISO 6222:1999)
- ISO 9308–1:2000 Standard. Water Quality – Detection and enumeration of Escherichia coli and coliform bacteria – Part 1: Membrane filtration method.
- APHA (1998). Standard methods for examination of water and wastewater 20th ed., American Public Health Association Water Works Association, Water Environmental Federation Washington, DC.
- Rao, V. N. M., Blane, K. (1985). PC-STAT, statistical programs for microcomputers. Version 1A. Department of Food Science and Technology, University of Georgia, Athens, GA, USA, 1985.
- Khanal, S., Kazama, S., Benyapa, S., Takizawa, S. (2023). Performance assessment of household water treatment and safe storage in Kathmandu Valley, Nepal. *Water*, 15(12), Article 2305. <https://doi.org/10.3390/w15122305>
- Egyptian Standards: ES:190–1(2007). Drinking water and ice standards. Part 1: Drinking water. Egyptian Organization for Standardization and Quality.
- Rahman, I.M.M., Barua, S., Barua, R., Mutsuddi, R., Alamgir, M., Islam, F. et al. (2017). Quality assessment of the non-carbonated bottled drinking water marketed in Bangladesh and comparison with tap water. *Food Control*, 73, 1149–1158. <http://doi.org/10.1016/j.foodcont.2016.10.032>
- Al-Oud, S.S., El-Nadi, A.H., Salad, S. (2000). Detection of organic aromatic polycyclic hydrocarbons in underground water of Al-Qassim region, central of Saudi Arabia. *The Journal of Agricultural Science, Mansoura University*, 25(7), 4709–4715.
- Jaafari-Ashkavandi, Z., Kheirmand, M. (2013). Effect of home-used water purifier on fluoride concentration of drinking water in Southern Iran. *Dental Research Journal*, 10(4), 489–492.
- Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (JECFA). (2003). Nitrate and potential endogenous formation of N-nitroso compounds. Chapter in Safety evaluation of certain food additives and contaminants. Geneva. Retrieved from <https://inchem.org/documents/jecfa/jecmono/v50je01.htm> Accessed August 25, 2023
- EEA (2011). Commission Regulation (EU) No. 1258/2011 of 2 December 2011 amending Regulation (EC) No. 1881/2006 as regards maximum levels for nitrates in foodstuffs. *Official Journal of the European Union*, L 320, 15–17. Retrieved from <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/TXT/PDF/?uri=CELEX:32011R1258&from=EN> Accessed August 10, 2023
- WHO (World Health Organization). (2017). Guidelines for Drinking-water Quality. 4<sup>th</sup> edition. Incorporating the first addendum. World Health Organization, Geneva.
- Al-Redhaiman, K.N., Abdel-Magid, H.M. (2002). The applicability of the local and international water quality guidelines to Al-Gassim region of central Saudi Arabia. *Water, Air, and Soil Pollution*, 137(1), 235–246. <https://doi.org/10.1023/A:1015550417199>
- Islam, M., Nasrin, T., Islam, M. (2021). Determination of surface water quality for irrigation in Dinajpur. *Turkish Journal of Agriculture – Food Science and Technology*, 9(10), 1782–1791. <https://doi.org/10.24925/turjaf.v9i10.1782-1791.4208>
- Abd Rahim, N.S., Othman, N. (March 31, 2019). *Home water purification system in Malaysia: Qualitative and quantitative study*. IOP Conference Series: Materials Science and Engineering, Volume 601, Postgraduate Symposium in Civil and Environmental Engineering, Universiti Tun Hussein Onn Malaysia, 2019. <https://doi.org/10.1088/1757-899X/601/1/012011>



AUTHOR INFORMATION	СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ
<b>Affiliation</b>	<b>Принадлежность к организации</b>
<p><b>Abdalla S. M. Ammar</b>, Professor, Food Science and Technology Department, Faculty of Agriculture, Cairo University 1 Gamaa Street, Giza, 12613, Egypt Food Science and Human Nutrition Department, College of Agriculture and Veterinary Medicine, Qassim University, Saudi Arabia Tel.: +2-0101-997-17-99 E-mail: abdallaammar@agr.cu.edu.eg ORCID: <a href="https://orcid.org/0000-0002-9919-8760">https://orcid.org/0000-0002-9919-8760</a> * corresponding author</p> <p><b>Mohamed G. El-Ziney</b>, Professor of Dairy Science and Technology, Dairy Science and Technology Department, Faculty of Agriculture, Alexandria University PO Box 21454 Alexandria, Egypt Food Science and Human Nutrition Department, College of Agriculture and Veterinary Medicine, Qassim University, Saudi Arabia Tel.: +2-0106-516-63-51 E-mail: elziney@yahoo.com ORCID: <a href="http://orcid.org/0000-0001-9082-4262">http://orcid.org/0000-0001-9082-4262</a></p> <p><b>Ahmad I. Al-Turki</b>, Professor of Environmental Microbiology, Plant Production and Protection Department, College of Agriculture and Veterinary Medicine, Qassim University PO BOX 6622, Buraydah 51452, Al-Qassim, Saudi Arabia Tel.: +966-0568-410-066 E-mail: trky@qu.edu.sa ORCID: <a href="http://orcid.org/0009-0006-8805-061X">http://orcid.org/0009-0006-8805-061X</a></p>	<p><b>Аммар Абдалла С. М.</b>, профессор, кафедра науки о питании и технологии, Сельскохозяйственный факультет, Каирский Университет 12613, Египет, Гиза, ул. Гамаа, 1 Факультет пищевых наук и питания человека, Колледж сельского хозяйства и ветеринарной медицины, Университет Кассима, Саудовская Аравия Тел.: +2-0101-997-17-99 E-mail: abdallaammar@agr.cu.edu.eg ORCID: <a href="https://orcid.org/0000-0002-9919-8760">https://orcid.org/0000-0002-9919-8760</a> * автор для контактов</p> <p><b>Эль-Зини Мохаммед Г.</b>, профессор технологии молока, кафедра технологии молочной промышленности, сельскохозяйственный факультет, Александрийский университет 21454, Александрия, Египет Факультет пищевых наук и питания человека, Колледж сельского хозяйства и ветеринарной медицины, Университет Кассима, Саудовская Аравия Тел.: +2-0106-516-63-51 E-mail: elziney@yahoo.com ORCID: <a href="http://orcid.org/0000-0001-9082-4262">http://orcid.org/0000-0001-9082-4262</a></p> <p><b>Аль-Турки Ахмад И.</b>, профессор экологической микробиологии, факультет растениеводства и защиты растений, Колледж сельского хозяйства и ветеринарной медицины, Университет Кассима 51452, Саудовская Аравия, Бурайда, п/о 6622 Тел.: +966-0568-410-066 E-mail: trky@qu.edu.sa ORCID: <a href="http://orcid.org/0009-0006-8805-061X">http://orcid.org/0009-0006-8805-061X</a></p>
<b>Contribution</b>	<b>Критерии авторства</b>
Authors equally relevant to the writing of the manuscript, and equally responsible for plagiarism.	Авторы в равных долях имеют отношение к написанию рукописи и одинаково несут ответственность за плагиат.
<b>Conflict of interest</b>	<b>Конфликт интересов</b>
The authors declare no conflict of interest.	Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

DOI: <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2024-7-1-144-150>



Поступила 04.11.2023

Поступила после рецензирования 26.03.2024

Принята в печать 29.03.2024

© Мордвинова В. А., Свириденко Г. М., Остроухова И. Л., Остроухов Д. В., 2024

<https://www.fsjour.com/jour>

Научная статья

Open access

## ИЗУЧЕНИЕ ВОЗМОЖНОСТИ ВЫРАБОТКИ РАССОЛЬНЫХ СЫРОВ ИЗ ЗАМОРОЖЕННОГО ОВЕЧЬЕГО МОЛОКА

Мордвинова В. А., Свириденко Г. М., Остроухова И. Л.\*, Остроухов Д. В.

Всероссийский научно-исследовательский институт маслоделия и сыроделия, Углич, Ярославская область, Россия

### КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: АННОТАЦИЯ

овечье молоко, замораживание, дефростация, сыропригодные свойства, рассольный сыр, органолептические показатели

В статье представлены результаты исследования показателей качества рассольных сыров, выработанных из дефростированного овечьего молока. Объектами изучения были натуральное и дефростированное овечье молоко, рассольные сыры из этого молока. Исследования дефростированного овечьего молока (опыт) проводили через 10 сут его хранения при температуре минус 18 °С с последующей дефростацией при температуре 20 ± 2 °С. Состав натурального овечьего молока (контроль) рассматривался после хранения в течение 24 ± 12 ч при температуре 4 ± 2 °С. Было установлено, что замораживание молока и последующая его дефростация не оказали значимого влияния на содержание сухих веществ молока, на массовую долю белка и жира, на титруемую кислотность; однако массовая доля кальция уменьшилась в среднем на 20%. Замораживание молока значимо не повлияло на общее количество микроорганизмов, в том числе споровых аэробных микроорганизмов и плесневых грибов. Число соматических клеток снизилось в 3,0–4,5 раза. Не было установлено отличий между контрольным и опытным образцами молока в способности к сычужному свертыванию. Уровень синерезиса стустков в контрольном образце сыра был на 16 ± 1% выше по сравнению с опытным образцом. Сыры выработывали по традиционной технологической схеме рассольного сыра с использованием производственной мезофильной бактериальной закваски. Контрольные и опытные сыры значимо не отличались по физико-химическим показателям. По степени протеолиза между контрольными и опытными вариантами не было установлено достоверных отличий. В опытном образце сыра было отмечено снижение буферной емкости сырной массы в сравнении с контрольными сырами. Замораживание молока не оказало существенного влияния на характеристики вкуса сыров: в обоих вариантах сыры характеризовались слабовыраженным сырным, кисломолочным вкусом с оригинальными привкусами овечьего молока. Более заметные отличия были установлены в консистенции сыров. В контрольном варианте консистенция характеризовалась как нежная, слегка ломкая; в опытном — менее нежная, но ломкая и слегка мучнистая. Наибольшее ухудшение консистенции наблюдали в образцах замороженного сыра из натурального молока после дефростации; она определялась как ломкая, мучнистая, крошливая.

ФИНАНСИРОВАНИЕ: Статья подготовлена в рамках выполнения исследований по государственному заданию № FNEN-2019-0011 Федерального научного центра пищевых систем им. В. М. Горбатова Российской академии наук.

Received 04.11.2023

Accepted in revised 26.03.2024

Accepted for publication 29.03.2024

© Mordvinova V. A., Sviridenko G. M., Ostroukhova I. L., Ostroukhov D. V., 2024

Available online at <https://www.fsjour.com/jour>

Original scientific article

Open access

## STUDY OF THE POSSIBILITY OF PRODUCING BRINE-RIPENED CHEESES FROM FROZEN SHEEP'S MILK

Valentina A. Mordvinova, Galina M. Sviridenko, Irina L. Ostroukhova\*, Dmitriy V. Ostroukhov

All-Russian Scientific Research Institute of Butter- and Cheesemaking, Uglich, Yaroslavl Region, Russia

### KEY WORDS:

sheep's milk, freezing, defrosting, cheese-like properties, brine cheese, organoleptic characteristics

### ABSTRACT

The article presents the results of a study of the quality indicators of brine-ripened cheeses produced from defrosted sheep's milk. The objects of the study were natural and defrosted sheep's milk, brine-ripened cheeses from this milk. The study of defrosted sheep's milk (experiment) was carried out after 10 days of its storage at a temperature of –18 °C followed by defrostation at a temperature of 20 ± 2 °C. The composition of natural sheep's milk (control) was examined after storage for 24 ± 12 hours at a temperature of 4 ± 2 °C. It has been found that the freezing of milk and its subsequent defrostation did not have a significant effect on the milk solids content, the mass fraction of protein and fat, titrated acidity; however, the mass fraction of calcium decreased, on average, by 20%. Freezing milk did not significantly affect the total number of microorganisms, including spore aerobic microorganisms and molds. A decrease in the number of somatic cells (from 3.0 to 4.5 times) was found. There were no differences between the control and experimental milk samples in the renneting ability. The level of syneresis of clots in the control sample was 16 ± 1% higher compared to the experimental sample. The cheeses were produced according to the traditional technological scheme of brine-ripened cheese using a production mesophilic bacterial starter culture. The control and experimental cheeses did not differ significantly in physical and chemical parameters. According to the degree of proteolysis, there were no significant differences between the control and experimental variants. In the experimental sample, a decrease in the buffer capacity of the cheese mass was noted in comparison with the control cheeses. The freezing of milk did not have a significant effect on the taste characteristics of the cheeses: in both variants, the cheeses were characterized by a weakly expressed cheese, fermented milk taste with original taste of sheep's milk. More noticeable differences were found in the consistency of the cheeses. In the control version, the consistency was characterized as tender, slightly brittle; in the experimental version, it was less tender, but brittle and slightly powdery. The greatest deterioration in consistency was observed in the samples of frozen cheese made from natural milk after defrosting; it was characterized as brittle, powdery, crumbly.

FUNDING: The article was published as part of the research topic No. FNEN-2019-0011 of the state assignment of the V. M. Gorbatov Federal Research Center for Food Systems of RAS.

ДЛЯ ЦИТИРОВАНИЯ: Мордвинова, В. А., Свириденко, Г. М., Остроухова, И. Л., Остроухов, Д. В. (2023). Изучение возможности выработки рассольных сыров из замороженного овечьего молока. *Пищевые системы*, 7(1), 144–150. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2024-7-1-144-150>

FOR CITATION: Mordvinova, V. A., Sviridenko, G. M., Ostroukhova, I. L., Ostroukhov, D. V. (2023). Study of the possibility of producing brine-ripened cheeses from frozen sheep's milk. *Food Systems*, 7(1), 144–150. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2024-7-1-144-150>

## 1. Введение

Объемы производства овечьего молока, по сравнению с молоком других лактирующих животных, невелики и составляют 1,3–1,4% в мировом объеме молока [1,2]. Однако в овечьем молоке по сравнению с коровьим содержится в 1,5 раза больше сухих веществ; в его составе присутствует достаточное количество белков, жиров и минеральных веществ — кальция и фосфора, играющих важную роль в производстве сыров [3].

В европейском сыроделии сыры из овечьего молока относят к элитной группе сыров категории PDO с защищенными наименованиями по месту происхождения, такими как Рокфор, Пекорино Романо, Пекорино Сарду, Сицилиано, Манчего, Кастелу Бранку, Эвора и др. [4]. Из овечьего молока изготавливают также йогурты и сывороточные сыры [5].

В РФ темпы прироста овечьего молока невелики, но устойчивы. За последние 10 лет объемы производства составили 6,5 тыс. т, появились проекты промышленного доения овец с последующей переработкой молока для изготовления сыров премиум-класса [6]. Однако основное производство молока до сих пор сосредоточено в крестьянско-фермерских хозяйствах, где вопросы накопления молока для выработки сыра или транспортировки на удаленные расстояния с целью реализации или дальнейшей переработки подразумевают его предварительное консервирование, например, замораживанием. Период лактации у овец очень короткий, 130–150 дней [6], и возможность консервирования молока позволит производителям сгладить сезонность, повысить рентабельность производства.

Замораживание небольших объемов молока является достаточно распространенным приемом в практике европейского сыроделия [7]. В нашей стране этот способ применяется для редких видов животных, при небольших объемах и высокой сезонности [8]. Замораживание как альтернатива для консервирования сырого молока в крестьянско-фермерских хозяйствах предлагается для овечьего [7], козьего [9,10,11], буйволиного [12], кобыльего [13] молока.

Однако в научной литературе приводятся разные сведения о поведении молока при криодефростации. Например, по данным Кручинина и др. [14], криоконсервирование молока позволяет сохранить большинство его полезных компонентов. В исследовании Wendorff [15] сообщается, что замораживание овечьего молока при минус 27 °С способствует сохранению стабильности структуры в течение 12 мес хранения, а замораживание при минус 15 °С — не более 6 месяцев. Продукты, произведенные из молока, замороженного при температуре минус 27 °С, показали хорошие органолептические и функциональные свойства.

В работе Middleditch и др. [16] сообщается, что овечье молоко как раннего, так и позднего сезона лактации сохраняет качество после хранения в замороженном виде в течение 24 недель; его показатели сопоставимы с показателями свежего молока аналогичного периода.

Katsiari и др. [17] было показано, что в образцах замороженного при температуре минус 20 °С и дефростированного после 6 месяцев хранения овечьего молока общее количество бактерий было значительно ниже ( $p < 0,05$ ), чем в свежем молоке. На общее содержание микроорганизмов оказала влияние и температура заморозки. Так, Wendorff [15] установил, что общее количество бактерий уменьшалось более быстрыми темпами в молоке, хранившемся при температуре минус 15 °С, чем при температуре минус 27 °С.

Исследования [18] доказывают сохранение сыропригодных свойств овечьего молока, замороженного при температуре минус 18 °С и хранящегося в течение 3 месяцев. При этом содержание коллоидного фосфора, кальция и магния, влияющее на сычужную свертываемость молока, изменялось незначительно. Zhang и др. [19] делают вывод, что сыр хорошего качества можно производить из овечьего молока, замороженного как при температуре минус 15 °С, так и при минус 25 °С на срок до 6 месяцев, без влияния на выход или состав сыра.

Возможность длительного хранения овечьего молока в замороженном виде связывают с более мелкими размерами (по сравнению с жиром коровьего молока) и с большей степенью дисперсности жировых глобул молока. Этот фактор позволяет избежать разделения фаз при замерзании и обеспечивает стабильную консистенцию [20]. Сохранению однородности молока после замораживания и дефростации также способствует строение казеиновых мицелл овечьего молока, отличающихся от мицелл коровьего молока как размерами (в 1,3 раза меньше), так и наличием мультифосфорилированных форм  $\beta$ -казеина [21].

С другой стороны, многие исследователи заявляют о дестабилизации молочных белков и о возникающей в результате этого флокуляции или выпадении осадка при оттаивании во время хранения

молока в замороженном виде. Эти изменения сходны с изменениями, происходящими с компонентами молока в результате концентрирования [22,23].

Например, Tribst и др. [24] пришли к выводу, что замораживание овечьего молока при минус 18 °С и его оттаивание при 7 °С приводит к увеличению размера жировых шариков и к более высокому отделению сливок по сравнению со свежим молоком. Размораживание обезжиренного молока при температуре 25 °С обнаружило изменения солевого баланса, привело к увеличению его буферной способности и к снижению содержания растворимого кальция сразу после оттаивания.

При изучении влияния длительного замораживания на сычужные свойства молока овец породы Sarda [25] было установлено, что эффект хранения существенно повлиял ( $p < 0,01$ ) на параметры сычужного свертывания. После продолжительного хранения в замороженном виде было зарегистрировано большое количество некоагулирующих субпроб. Кроме того, время свертывания молока из замороженных образцов было больше, а твердость сгустка снижалась после периода замораживания пять месяцев. Заметное снижение сычужных свойств овечьего молока после хранения в замороженном виде может свидетельствовать об уменьшении выхода и качества изготовленного сыра. В связи с этим сделан вывод, что замораживание сырого молока Sarda следует ограничить более короткими сроками.

Производство сыра Паста Филата из замороженного овечьего молока не стало хорошей альтернативой использованию натурального сырья [26]. Новые сыры не были приняты потребителями. Обсуждением послужили изменения текстуры и профиля плавкости сыров, изготовленных полностью из замороженного овечьего молока, а также в смеси с 30% коровьего молока. Замораживание молока привело к потере «свежести» во вкусе сыра, эластичности и блеска сыров Паста Филата; сыры получились более твердыми и ломкими.

Alinovi с соавторами [27] показали, что замороженные сыры Моцарелла, хранящиеся при температуре минус 18 °С в течение 1–4 мес, показали более высокий уровень протеолиза, чем свежие сыры. Появление окисленных и горьких привкусов в сырах после размораживания авторы связывают с остаточной активностью ферментов и с более легким их доступом к казеину из-за изменения его структуры во время замораживания и хранения.

Известно, что помимо молока замораживанию подвергают и готовые молочные продукты, такие как сливки, йогурт, кефир, творог и сыры [28,29,30].

Сыры из овечьего молока, хранившиеся в замороженном виде в течение 3, 6 и 9 мес, достоверно отличались ( $p < 0,05$ ) от контрольных сыров по массовой доле молочной кислоты и по величине pH [31]. Протеолиз в замороженных сырах продолжался медленно, но значительно более высокими показателями небелкового и аминокислотного азота ( $p < 0,05$ ), присутствующего в конце периода хранения.

Исследованиями с помощью электронной микроскопии были обнаружены повреждения микроструктуры в сырах, замороженных сразу после изготовления и хранившихся в течение 4 месяцев [32]. Лучшие результаты при хранении замороженного сыра Serra из овечьего молока в течение 12 месяцев были получены, когда замораживали сыр на конечной стадии созревания (после 42 сут) при температуре замораживания минус 20 °С [33]. При этом замораживание не предотвратило вторичный протеолиз сыра. Замороженные образцы сыра показали более высокие значения небелкового азота, чем замороженные образцы.

В полутвердых сырах из овечьего молока, замороженных сразу после изготовления при двух режимах (минус 35 °С и минус 80 °С) и хранившихся при минус 20 °С в течение 4 мес с последующим созреванием в течение 45 сут, не было обнаружено заметных изменений общего состава, реологических и сенсорных свойств. Предварительное замораживание снизило жизнеспособность микробной флоры сыра, повысило влагоудерживающую способность белка и уровень протеолиза [34].

В процессе изучения органолептических характеристик сыра Los-Pedroches после замораживания и 3 мес хранения в замороженном виде было выявлено изменение консистенции, запаха, интенсивности вкуса, кислотности. Количество и размер глазков существенно уменьшились. Консистенция медленно замороженных сыров была хуже. Эти тенденции сохранялись без изменений до 9 мес хранения в замороженном виде [35].

Результаты исследований [36] хранения сыра-сырья для пиццы показали, что замораживание можно рассматривать как способ замедления биологических и физико-химических изменений, что является безопасным способом увеличения срока годности. Но при

использовании замороженного сырного сырья наблюдали ухудшение желаемых функциональных свойств пиццы.

Результаты проведенного мониторинга научной литературы позволяют сделать заключение о противоречивости информации о пригодности дефростированного овечьего молока для изготовления сыров, в том числе рассольных, а также о нехватке информации об их качестве и хранимосте.

Исходя из актуальной проблемы, целью данной работы явились исследование технологических свойств дефростированного овечьего молока и качественных показателей выработанных из него рассольных сыров в кондиционном возрасте и в процессе хранения, в том числе в замороженном виде.

## 2. Объекты и методы

Объектами исследований были: натуральное овечье молоко животных породы суффолк (контроль), замороженное и дефростированное овечье молоко (опыт); рассольные сыры, выработанные из натурального и дефростированного овечьего молока, а также замороженный и дефростированный рассольный сыр, выработанный из натурального овечьего молока.

Опытную партию молока замораживали при температуре минус 18 °С и хранили в течение 10 сут. Перед выработкой молоко дефростировали при температуре 20 ± 2 °С. Контролем служило овечье молоко, охлажденное до температуры 4 ± 2 °С, после хранения в течение 24 ± 12 ч.

Сыры выработывали в экспериментальном цехе ВНИИМС из цельного овечьего молока по традиционной для рассольных сыров технологической схеме. Для их изготовления использовали производственную бактериальную закваску в количестве 1,5%, состоящую из смеси мезофильных лактококков (*Lactococcus lactis* subsp. *Lactis*, *Lactococcus lactis* subsp. *diacetylactis*, *Leuconostoc lactis*/*Leuconostoc mesenteroides* subsp. *cremoris*) и палочек (*Lactiplantibacillus plantarum*). Сыры созревали при температуре 11 ± 1 °С и относительной влажности воздуха (80 ± 2)% в течение 5 сут. Было выработано по 10 головок контрольных и опытных сыров массой 1,0 ± 0,1 кг. Половину образцов сыра из натурального молока замораживали при температуре минус 18 °С и хранили в течение 90 сут. Перед испытаниями образцы сыра дефростировали при температуре 20 ± 2 °С.

Определяли физико-химические показатели молока (массовую долю жира, белка, СОМО, минеральных солей, плотность, кислотность и точку замерзания) приборным методом с использованием анализатора молока MilkoScan FT 2 (FossAnalytical A/S, Дания), действие которого основано на применении метода инфракрасной Фурье-спектроскопии.

Содержание кальция в молоке определяли по ГОСТ Р 55331–2012<sup>1</sup> титриметрическим методом.

Определение количества мезофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов (в молоке) осуществляли по ГОСТ 32901–2014<sup>2</sup>, определение количества соматических клеток — по ГОСТ 23453–2014<sup>3</sup>. Определение количества дрожжей и плесеней проводили по ГОСТ 33566–2015<sup>4</sup>.

Массовую долю сухих веществ в сыворотке определяли методом высушивания по ГОСТ 33957–2016<sup>5</sup>.

В контрольных и опытных сырах определяли физико-химические показатели (массовую долю влаги и активную кислотность) по ГОСТ Р 55063–2012<sup>6</sup> и основные органолептические характеристики (вкус и запах, консистенция и рисунок) с помощью дескриптно-профильного метода, принимая во внимание выраженность основных характеристик вкуса и запаха (сырный, кисломолочный, соленый, гармоничный) и консистенции (нежная, ломкая, мучнистая, несвязная), характерных для рассольных сыров, оцениваемых по условной шкале от 0 до 5 баллов. Массовую долю жира зрелых сыров в пересчете на сухое вещество определяли кислотным методом, а массовую долю поваренной соли — кондуктометрическим методом в соответствии со стандартизованными в ГОСТ Р 55063–2012<sup>6</sup> методиками.

<sup>1</sup> ГОСТ Р 55331–2012 «Молоко и молочные продукты. Титриметрический метод определения содержания кальция». — М.: Стандартинформ, 2014. — 7 с.

<sup>2</sup> ГОСТ 32901–2014 «Молоко и молочная продукция. Методы микробиологического анализа». — М.: Стандартинформ, 2015. — 25 с.

<sup>3</sup> ГОСТ 23453–2014 «Молоко сырое. Методы определения соматических клеток». — М.: Стандартинформ, 2015. — 14 с.

<sup>4</sup> ГОСТ 33566–2015 «Молоко и молочная продукция. Определение дрожжей и плесневых грибов».

<sup>5</sup> ГОСТ 33957–2016 «Сыворотка молочная и напитки на ее основе. Правила приемки, отбор проб и методы контроля». — М.: Стандартинформ, 2017. — 16 с.

<sup>6</sup> ГОСТ Р 55063–2012 «Сыры и сыры плавленые. Правила приемки, отбор проб и методы контроля». — М.: Стандартинформ, 2013. — 28 с.

Массовую долю азота определяли методом Кьельдаля по ГОСТ Р 54662–2011<sup>7</sup>. Степень протеолиза — по отношению массовой доли растворимого азота к массовой доле общего азота, выраженному в процентах.

Процесс сычужного свертывания молока исследовали на пилотной установке, фиксируя модуль упругости образующегося сгустка (G'). Для этого в мерные стаканчики на 1000 см<sup>3</sup> вносили по 800 см<sup>3</sup> исследуемого молока, помещали их в термостат и нагревали до температуры 37 °С. Затем в каждый стаканчик добавляли по 1,0 см<sup>3</sup> водного раствора сычужного фермента по ГОСТ 34353–2017<sup>8</sup>.

Синергетическую способность гелей исследовали путем измерения количества выделившейся после центрифугирования сыворотки, по которому судили о способности гелей отдавать сыворотку при срезе, а также о массе полученного сгустка. Для этого молоко с сычужным ферментом отливали в мерные градуированные центрифужные пробирки объемом 40 мл. Выдерживали в термостате при температуре 37 °С в течение 1 ч. По истечении этого времени центрифужные пробирки центрифугировали на лабораторной центрифуге ОПн-8УХЛ4.2 (ОАО ТНК «Дастан», Киргизия) в течение 20 мин со скоростью 6000 об/мин.

Определение общего количества заквасочных микроорганизмов в молочной смеси и сыре проводили на плотной питательной среде КМАФАнМ при (30 ± 1) °С в течение 72 ч, а также на среде МКМ-1 по ГОСТ 33951–2016<sup>9</sup>.

Математическую обработку полученных результатов проводили с использованием двухвыборочного t-теста с различными дисперсиями в программе Microsoft Excel 2010.

## 3. Результаты и обсуждение

Результаты исследований качественных показателей натурального и дефростированного овечьего молока представлены в Таблице 1 и Таблице 2.

Физико-химические показатели и количество соматических клеток образцов овечьего молока, которые подвергались испытаниям, имеют расхождение с требованиями ТР ТС/2013<sup>10</sup>, где указано, что в овечьем молоке массовая доля белка должна быть не менее 5,1%; массовая доля жира — не менее 6,2%; количество соматических клеток — не более 500 тыс. клеток. Исследования ВНИИМС 2021–2022 гг. выявили несоответствие 40% исследованных образцов овечьего молока по этим показателям требованиям ТР ТС 033/2013. Авторы связывают данный факт с тем, что за последние годы появились иные породы овец, особенно молочного направления, состав молока которых не всегда соответствует требованиям, заложенным в ТР ТС. Это подтверждается и исследованиями Всероссийского НИИ овцеводства и козоводства — филиала ФГБНУ «Северо-Кавказский федеральный научный аграрный центр». Поэтому в статье приведены фактические значения показателей в образцах овечьего молока, которые подвергались испытаниям.

В рамках эксперимента было отмечено незначительное уменьшение массовой доли сухих веществ молока (в среднем на 1,5–2,0%), в том числе белка и жира после дефростации. Это, в свою очередь, привело к снижению плотности и кислотности дефростированного молока. При этом массовая доля кальция в дефростированном молоке снизилась в большей степени, в среднем на 20%. Полученные результаты согласуются с данными исследований [23], где было установлено изменение солевого баланса и уменьшение содержания растворимого кальция сразу после оттаивания молока.

В нашем эксперименте хранение в замороженном состоянии и последующая дефростация овечьего молока не оказали значимого влияния как на общее количество микроорганизмов, так и на жизнеспособность спорных аэробных микроорганизмов и плесневых грибов. Выявленное снижение количества бактерий в исследованиях [15,17], возможно, связано с большей длительностью хранения молока в замороженном состоянии (до 12 мес).

Было установлено существенное снижение (более, чем в 4,5 раза) количества соматических клеток в дефростированном овечьем молоке. Данный факт является характерным и для других видов дефростированного молока, в том числе козьего [37].

<sup>7</sup> ГОСТ Р 54662–2011 «Сыры и сыры плавленые. Определение массовой доли белка методом Кьельдаля». — М.: Стандартинформ, 2012. — 16 с.

<sup>8</sup> ГОСТ 34353–2017 «Препараты ферментные молокозаквашивающие животного происхождения сухие. Технические условия». — М.: Стандартинформ, 2018. — 45 с.

<sup>9</sup> ГОСТ 33951–2016 «Молоко и молочные продукты. Методы определения молочнокислых микроорганизмов». — М.: Стандартинформ, 2017. — 9 с.

<sup>10</sup> ТР ТС 033/2013 Технический регламент Таможенного союза «О безопасности молока и молочной продукции». Принят Решением Совета Евразийской экономической комиссии от 9 октября 2013 года № 67.

Таблица 1. Физико-химические показатели овечьего молока

Table 1. Physico-chemical parameters of sheep's milk

Варианты	Массовая доля, %			Массовая доля кальция,* мг/100 г	Титруемая кислотность, °Т	Плотность, кг/м <sup>3</sup>
	жира	белка	СОМО			
Натуральное овечье молоко	5,6±0,5	4,9±0,1	17,8±0,6	185±15	22,0±1,0	1033,8±0,2
Дефростированное овечье молоко	5,5±0,5	4,8±0,1	17,6±0,7	152±15	21,0±1,0	1033,0±0,2

Примечание: средние значения в столбцах не имеют значимых различий, кроме столбца со значком «\*» (p < 0,05), число степеней свободы n = 4.

Таблица 2. Микробиологические показатели овечьего молока

Table 2. Microbiological parameters of sheep's milk

Варианты	КМАФАнМ, КОЕ/см <sup>3</sup>	Дрожжи, КОЕ/см <sup>3</sup>	Плесневые грибы, КОЕ/см <sup>3</sup>	Количество соматических клеток,* тыс. кл/см <sup>3</sup>	Споровые аэробы, КОЕ/см <sup>3</sup>
Натуральное овечье молоко	(2,90±0,14) × 10 <sup>4</sup>	< 50	8±2	(1,50±0,15) × 10 <sup>6</sup>	(1,8±0,1) × 10 <sup>3</sup>
Дефростированное овечье молоко	(3,80±0,12) × 10 <sup>4</sup>	< 50	4±1	(3,30±0,15) × 10 <sup>5</sup>	(1,7±0,1) × 10 <sup>3</sup>

Примечание: средние значения в столбцах не имеют значимых различий (p < 0,05), число степеней свободы n = 4.

Результаты оценки способности натурального и дефростированного овечьего молока к сычужному свертыванию и синергетические свойства полученного сгустка как основные критерии оценки сыропригодных свойств молока представлены на Рисунках 1, 2.

Анализ полученных результатов показал отсутствие значимого влияния процесса замораживания овечьего молока на его технологические свойства. Продолжительность образования сгустка в обоих вариантах овечьего молока составляла (35 ± 1) мин (Рисунок 1). При этом ранее выявленное снижение массовой доли кальция в овечьем молоке после дефростации (Таблица 1) в данном эксперименте не

оказало влияния на фазу флокуляции сгустка. Возможно, это связано с большим содержанием кальция в овечьем молоке (почти в 2 раза выше, чем в коровьем [3]), и выявленное снижение содержания кальция в молоке после дефростации не было критичным для процесса образования сгустка.

Ферментативная фаза овечьего молока начинается раньше и заканчивается быстрее в среднем на 22%, чем у коровьего молока. Это означает, что готовность сгустка из овечьего молока обоих вариантов наступит раньше на (8 ± 1) мин, чем у коровьего молока, при одинаковой дозе молокосвертывающего фермента. По мнению авторов, большая скорость ферментативной фазы овечьего молока связана с большей концентрацией субстрата (казеина). Поскольку массовая доля казеина в овечьем молоке выше, то и результирующих взаимодействий молекул фермента с мицеллами будет больше (примерно во столько же раз).

Уровень синерезиса (количество сыворотки, выделившейся из сгустка при центрифугировании, Рисунок 2) показал различия между сгустками, полученными из натурального и дефростированного овечьего молока: в натуральном молоке количество сыворотки, выделившейся из сгустков, увеличилось (на 16 ± 1%) в сравнении с дефростированным молоком. Объем сыворотки, выделившейся из сгустков коровьего молока, был на 49 ± 1% больше, чем объем сыворотки из сгустков овечьего натурального молока. Вероятно, это связано с большим содержанием белка в овечьем молоке в сравнении с коровьим молоком, который ответствен за процессы удерживания влаги сгустком.

Сыры вырабатывали из цельного натурального и дефростированного овечьего молока по традиционной для рассольных сыров технологической схеме. Особенностью выработки рассольных сыров является созревание в рассоле. Поваренная соль как консервант ингибирует развитие заквасочных микроорганизмов, поэтому используются технологические приемы стимулирования молочнокислого процесса до помещения сырной головки в рассол. С этой целью проводили выдержку сыра в термокамере при температуре 28 ± 2 °С, оптимальной для развития мезофильной микрофлоры, до достижения определенного уровня рН как маркера активности молочнокислого процесса. Наблюдения за снижением активной кислотности не показали отличий между вариантами: через 17 ± 1 ч выдержки уровень рН в сырной массе из натурального молока составил 5,25 ± 0,05 ед. рН; в сыре из дефростированного молока — 5,30 ± 0,05 ед. рН. Незначительные отличия были выявлены в степени перехода сухих веществ в сыворотку: в пробах с натуральным молоком она составила 7,10 ± 0,21%, с дефростированным молоком — 7,32 ± 0,26%.

Одним из критериев оценки процесса выработки сыра является уровень молочнокислого брожения во время обработки сырного зерна и на этапе созревания сыра, оцениваемый по приросту заквасочных молочнокислых микроорганизмов (Таблица 3).

Данные, приведенные в Таблице 3, показывают, что количество заквасочных микроорганизмов, внесенных в смесь для выработки сыра, в обоих вариантах находилось на высоком уровне. Выдержка сыра при благоприятных для мезофильных микроорганизмов температурных условиях до момента помещения головки в рассол и снижения температуры сырной массы стимулировала рост заквасочной микрофлоры, ее количество увеличилось на порядок. Этот прием позволил и на 5 сут созревания наблюдать незначительное (в 2 раза), но стабильное увеличение количества заквасочных микроорганизмов. Скорости процессов развития микрофлоры не отличались друг от друга по вариантам. Это согласуется со значениями активной кислотности в сыре (Таблица 4).

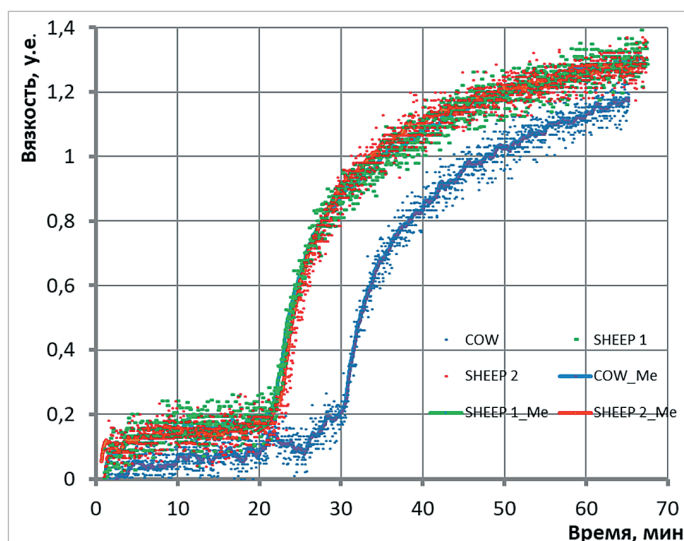


Рисунок 1. Процесс сычужного свертывания молока, где COW — коровье молоко; SHEEP 1 — овечье натуральное молоко; SHEEP 2 — овечье дефростированное молоко

Figure 1. Process of milk renneting

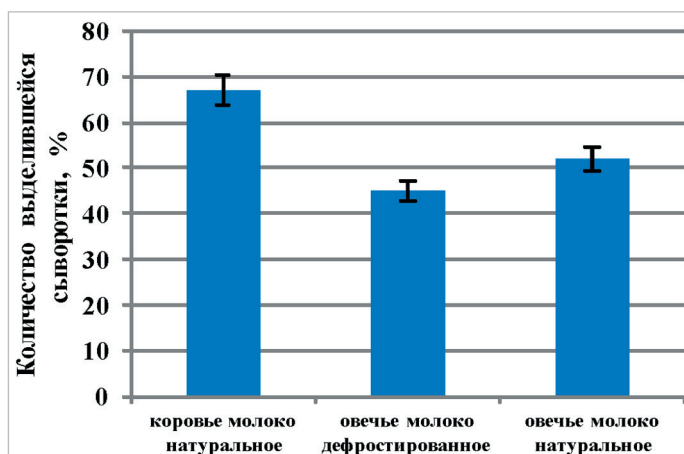


Рисунок 2. Уровень синерезиса сгустков

Figure 2. Level of syneresis of clots

Таблица 3. Изменение заквасочных микроорганизмов в смеси для выработки сыра и в сырах во время выработки и созревания  
Table 3. Change in starter microorganisms in the mixture for cheese making and in cheeses during making and ripening

Варианты	Отбор проб на разных этапах технологического процесса			
	смесь	сыр после самопрессования	сыр после термокамеры перед посолкой	5 сут
	Количество микроорганизмов, КОЕ/г			
Сыр из натурального овечьего молока	$(2,3 \pm 0,2) \times 10^7$	$(8,3 \pm 0,3) \times 10^7$	$(9,6 \pm 0,4) \times 10^8$	$(2,0 \pm 0,2) \times 10^9$
Сыр из дефростированного овечьего молока	$(2,0 \pm 0,2) \times 10^7$	$(7,8 \pm 0,4) \times 10^7$	$(8,7 \pm 0,5) \times 10^8$	$(1,7 \pm 0,5) \times 10^9$

Примечание: средние значения в столбцах не имеют значимых различий ( $p < 0,05$ ), число степеней свободы  $n = 4$ .

Таблица 4. Физико-химические показатели сыров  
Table 4. Physico-chemical parameters of cheeses

Варианты	Точки контроля		
	после самопрессования	перед посолкой	5 сут
Активная кислотность, ед. рН			
Сыр из натурального овечьего молока	$5,37 \pm 0,05$	$4,98 \pm 0,06$	$4,71 \pm 0,06$
Сыр из дефростированного овечьего молока	$5,42 \pm 0,05$	$5,04 \pm 0,05$	$4,68 \pm 0,07$
Массовая доля влаги, %			
Сыр из натурального овечьего молока	$61,5 \pm 0,5$	$60,4 \pm 0,4$	$59,2 \pm 0,6$
Сыр из дефростированного овечьего молока	$60,6 \pm 0,4$	$59,0 \pm 0,6$	$58,5 \pm 0,5$

Примечание: средние значения в столбцах не имеют значимых различий ( $p < 0,05$ ), число степеней свободы  $n = 4$ .

Как следует из Таблицы 4, активная кислотность (рН) и массовая доля влаги в сырах по вариантам значимо не отличались друг от друга. Массовая доля жира в сухом веществе в контрольных и опытных сырах находилась в диапазоне от 50,2% до 49,0%, а массовая доля соли — от 2,8% до 3,5%.

После созревания в течение 5 сут часть сыров из натурального молока заморозили на 90 сут при температуре минус 18 °С.

Сравнительные результаты измерения азотистых веществ в сырах кондиционного возраста и в сыре, дефростированном после хранения при отрицательных температурах, приведены в Таблице 5.

О биохимических превращениях белковой матрицы свидетельствует уровень протеолиза. Судя по полученным результатам, достоверных различий между вариантами в степени протеолиза не обнаружено, однако можно отметить тенденцию к торможению протеолитических процессов в сыре из замороженного молока и в замороженном сыре, выработанном из натурального молока. В этих же образцах отмечается снижение буферной емкости сырной массы в сравнении с сырами из натурального молока. Можно предположить, что это может быть связано с сокращением количества минеральных веществ в молоке при замораживании.

По результатам органолептической оценки (Рисунок 3), все образцы сыров характеризовались слабовыраженным сырным вкусом, что типично для рассольного сыра с коротким сроком созревания (5 сут). Доминирующими нотами вкусового букета были умеренно соленый и кисломолочный вкусы. Овечье молоко обогатило вкусовой букет сыров оригинальными характерными нотами, придало гармоничность послевкусию. Замораживание молока практически не отразилось на вкусе и запахе выработанного сыра. Замораживание сыра, выработанного из натурального молока, не вызвало появления посторонних привкусов и запахов, однако ухудшило восприятие гармоничности вкусового букета.

Наибольшие различия между вариантами были отмечены при оценке консистенции сыров. Так, сыр из натурального овечьего молока имел нежную, слегка ломкую консистенцию. Консистенция сыра, выработанного из дефростированного овечьего молока, была

Таблица 5. Содержание азотистых веществ в сырах  
Table 5. Content of nitrogenous substances in cheeses

Варианты	Показатель				
	Массовая доля общего белка, %	Массовая доля растворимого белка, %	Степень протеолиза, %	Массовая доля небелкового азота, %	Буферная емкость водорастворимой фракции*, ммоль/л
Сыр из натурального овечьего молока	$19,9 \pm 0,5$	$1,2 \pm 0,2$	$6,0 \pm 0,2$	$0,11 \pm 0,02$	$1,11 \pm 0,04$
Сыр из дефростированного овечьего молока	$19,7 \pm 0,5$	$1,1 \pm 0,2$	$5,6 \pm 0,2$	$0,10 \pm 0,02$	$0,99 \pm 0,02$
Сыр дефростированный из натурального молока	$19,7 \pm 0,5$	$1,0 \pm 0,2$	$5,1 \pm 0,3$	$0,10 \pm 0,02$	$0,99 \pm 0,02$

Примечание: средние значения в столбцах не имеют значимых различий, кроме столбца со значком «\*» ( $p < 0,05$ ), число степеней свободы  $n = 4$ .

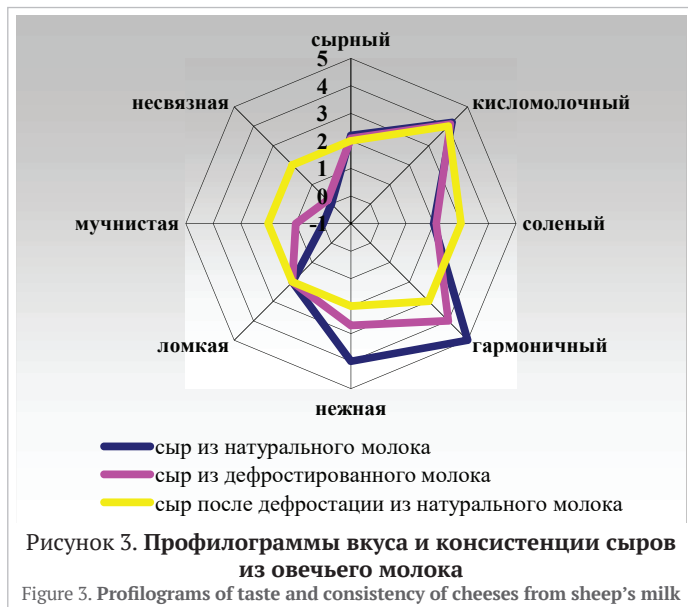


Рисунок 3. Профилограммы вкуса и консистенции сыров из овечьего молока  
Figure 3. Profilograms of taste and consistency of cheeses from sheep's milk

тоже достаточно нежная, но слегка мучнистая и более ломкая. Образец, хранящийся в замороженном виде в течение 90 сут, после дефростации характеризовался мучнистой, крошливой и несвязной консистенцией.

#### 4. Выводы

Проведенные исследования показали, что в условиях эксперимента режимы замораживания и дефростации существенно не повлияли на изменение состава овечьего молока (массовой доли сухих веществ, в т. ч. массовой доли жира и белка), однако массовая доля кальция уменьшилась на 20%. Количество соматических клеток снизилось в сравнении с контролем в среднем в 4,5 раза. Замораживание молока не оказало значимого влияния на общее количество микроорганизмов, в том числе на количество спорных аэробных микроорганизмов и плесневых грибов.

Замораживание не оказало существенного влияния на процесс сычужного свертывания, однако вызвало незначительное ухудшение синергетической способности стуста из дефростированного молока.

Физико-химический состав и вкусовые характеристики рассольного сыра, выработанного из дефростированного молока, существенно не отличались от аналогичных показателей качества сыра из натурального овечьего молока, однако в консистенции были отмечены не критичные различия (появление пороков: слегка мучнистая, ломкая).

Хранение сыра из натурального молока при отрицательных температурах не оказало влияния на вкусовые характеристики сыра, но привело к снижению оценки за консистенцию. Для установления оптимальной продолжительности хранения сыра в замороженном состоянии необходимы дополнительные исследования.

## БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. FAO (2023). Agricultural production statistics 2000–2022. FAOSTAT Analytical Briefs, No. 79. Rome, 2023. <https://doi.org/10.4060/cc9205en>
2. Mazinani, M., Rude, B. (2020). Population world production and quality of sheep and goat products. *American Journal of Animal and Veterinary Sciences*, 15(4), 291–299. <https://doi.org/10.3844/ajavsp.2020.291.299>
3. Юрова, Е. А., Мельденберг, Д. Н., Семенова, Е. С., Канина, К. А., Робкова, Т. О. (2017). Сравнительная оценка молока-сырья жвачных сельскохозяйственных животных. *Молочная промышленность*, 8, 60–63.
4. McSweeney, P. L. H., Cotter, P. D., Everett, D. W. (2017). *Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology*. Academic Press, 2017.
5. Tamime, A. Y., Wszolek, M., Božanić, R., Özer, B. (2011). Popular ovine and caprine fermented milks. *Small Ruminant Research*, 101(1–3), 2–16. <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2011.09.021>
6. Светличный, С. И., Бондаренко, Н. Н., Меренкова, Н. В., Селионова М. И., Свистунов, С. В. (2019). Пилотный проект промышленного производства овечьего молока на Кубани. *Овцы, козы, шерстяное дело*, 1, 20–24.
7. Tribst, A. A. L., Falcade, L. T. P., de Oliveira, M. M. (2018). Strategies for raw sheep milk storage in smallholdings: Effect of freezing or long-term refrigerated storage on microbial growth. *Journal of Dairy Science*, 102(6), 4960–4971. <https://doi.org/10.3168/jds.2018-15715>
8. Буянова, И. В., Лупинская, С. М., Лобачева, Е. М. (2018). Технологические аспекты холодильного хранения белковых молочных продуктов. *Техника и технология пищевых производств*, 48(4), 5–11. <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2018-4-5-11>
9. Nurliyani, Suranindyah, Y., Pretiwi, P. (2015). Quality and emulsion stability of milk from ettawah crossed bred goat during frozen storage. *Procedia Food Science*, 3, 142–149. <https://doi.org/10.1016/j.profoo.2015.01.015>
10. Lima, L. R. do N., Negreiros, I. F. L., da Silva, E. F., Ramos, L. de S. N. (2021). Physicochemical characteristics of goat's milk submitted to different freezing periods. *Research, Society and Development*, 10(4), Article e23710414089. <https://doi.org/10.33448/rsd-v10i4.14089> (In Portuguese)
11. Yu, Z., Qiao, C., Zhang, X., Yan, L., Li, L., Liu, Y. (2022). Screening of frozen-thawed conditions for keeping nutritive compositions and physicochemical characteristics of goat milk. *Journal of Dairy Science*, 104(4), 4108–4118. <https://doi.org/10.3168/jds.2020-19238>
12. Hassan, Z., Hamzawi, L., el Naga, M. A. (2010). Effect of frozen storage on the microbiological and technological properties of buffalo's milk. *Journal of Food and Dairy Sciences*, 1(12), 765–779. <http://doi.org/10.21608/jfds.2010.82516>
13. Алшынбаев, О. А., Мусабеков, А. Т., Полатова, Н. И. (2020). Динамика изменения биохимического состава замороженного летнего и зимнего кобыльего молока при его хранении. *Вестник Университета Шакарима. Серия технические науки*, (4(92)), 245–247. (На Казахском языке)
14. Кручинин, А. Г., Туровская, С. Н., Илларионова, Е. Е., Бигаева, А. В. (2020). К вопросу влияния замораживания на технологические свойства молока. *Вестник Международной академии холода*, 3, 58–63. <https://doi.org/10.17586/1606-4313-2020-19-3-58-63>
15. Wendorff, W. L. (2001). Freezing qualities of raw ovine milk for further processing. *Journal of Dairy Sciences*, 84(Suppl), E74-E78. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(01\)70200-7](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(01)70200-7)
16. Middleditch, D., Robertson, Dr. L. J., Archer, R. H., Soboleva, T. (2022). The effect of frozen storage on sheep milk properties. New Zealand Food Safety Technical Paper No:2022/08 Retrieved from <https://www.mpi.govt.nz/dmsdocument/51265/direct> Accessed Oktober 09, 2023
17. Katsiari, M. C., Voutsinas, L. P., Kondyli, E. (2002). Manufacture of yoghurt from stored frozen sheep's milk. *Food Chemistry*, 77(4), 413–420. [https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(01\)00367-3](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(01)00367-3)
18. Moreno, M. C. R., Emata, O. C. (2022). Effects of refrigeration, freezing and blast freezing on quality of raw cow's milk. *Mindanao Journal of Science and Technology*, 20(1), 241–255. <https://doi.org/10.61310/mndjstecbe.1096.22>
19. Zhang, R. H., Mustafa, A. F., Ng-Kwai-Hang, K. F., Zhao, X. (2006). Effects of freezing on composition and fatty acid profiles of sheep milk and cheese. *Small Ruminant Research*, 64(3), 203–210. <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2005.04.025>
20. Gantner, V., Mijić, P., Baban, M., Zoran, Š., Alka, T. (2015). The overall and fat composition of milk of various species. *Mljekarstvo*, 65(4), 223–231. <http://doi.org/10.15567/mljekarstvo.2015.0401>
21. Amigo, L., Recio, I., Ramos, M. (2000). Genetic polymorphism of ovine milk proteins: Its influence on technological properties of milk — a review. *International Dairy Journal*, 10(3), 135–49. [https://doi.org/10.1016/S0958-6946\(00\)00034-0](https://doi.org/10.1016/S0958-6946(00)00034-0)
22. Musembei, L. M., Bett, R. C., Gachui, C. K., Mbondo, B. K., Kibegwa, F. M. (2021). Effects of freezing as a post-harvest storage technique on quality of Friesian crossbred cattle milk. *African Journal of Food Science*, 15(7), 298–303. <https://doi.org/10.5897/AJFS2021.2118>
23. Gaber, S. M., Johansen, A.-G., Schüller, R. B., Devold, T. G., Rukke, E.-O., Skeie, S. B. (2020). Effect of freezing temperatures and time on mineral balance, particle size, rennet and acid coagulation of casein concentrates produced by microfiltration. *International Dairy Journal*, 101, Article 104563. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2019.104563>
24. Tribst, A. A. L., Toledo, L., Falcade, P. L., Ribeiro, R., Castro B. R., Júnior, L., Oliveira, M. M. (2019). Impact of extended refrigerated storage and freezing/thawing storage combination on physicochemical and microstructural characteristics of raw whole and skimmed sheep milk. *International Dairy Journal*, 94, 29–37. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2019.02.013>
25. Pazzola, M., Dettori, M. L., Piras, G., Pira, E., Manca, F., Puggioni, O. et al. (2013). The effect of long-term freezing on renneting properties of sarda sheep milk. *Agriculturae Conspectus Scientificus*, 78(3), 275–279.
26. Biegalski, J., Cais-Sokolińska, D., Tomaszewska-Gras J., Baranowska H. M. (2021). The effect of freezing sheep's milk on the meltability, texture, melting and fat crystallization profiles of fresh pasta filata cheese. *Animals*, 11, Article 2740. <https://doi.org/10.3390/ani11092740>
27. Alinovi, M., Wiking, L., Corredig, M., Muchetti, G. (2020). Effect of frozen and refrigerated storage on proteolysis and physicochemical properties of high-moisture citric mozzarella cheese. *Journal of Dairy Sciences*, 103(9), 7775–7790. <https://doi.org/10.3168/jds.2020-18396>
28. Alinovi, M., Muchetti, G., Wiking, L., Corredig, M. (2020). Freezing as a solution to preserve the quality of dairy products: The case of milk, curds and cheese. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 61(20), 3340–3360. <https://doi.org/10.1080/10408398.2020.1798348>
29. Doan, N. D., Solah, V. (2020). Effects of frozen storage on the physical properties and sensory acceptability of goat's milk yoghurt. *Vietnam Journal of Agricultural Sciences*, 3(1), 487–494. <https://doi.org/10.31817/vjas.2020.3.1.01>
30. Sarica, E., Coşkun, H. (2021). Effect of frozen storage on some characteristics of kefir samples made from cow's and goat's milk. *Food Science and Technology International*, 28(2), 157–168. <https://doi.org/10.1177/10820132211003710>
31. Tejada, L., Sánchez, E., Gómez, R., Vioque, M., Fernández-Salguero, J. (2002). Effect of freezing and frozen storage on chemical and microbiological characteristics in sheep milk cheese. *Journal Food Science*, 67, 126–129. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2002.tb11371.x>
32. Digvijaya, Kelly, A. L., Lamichhane, P. (2023). Ice crystallization and structural changes in cheese during freezing and frozen storage: Implications for functional properties. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. <https://doi.org/10.1080/10408398.2023.2277357>
33. Alvarenga, N., Canada, J., Sousa, I. (2011). Effect of freezing on the rheological, chemical and colour properties of Serpa cheese. *Journal Dairy Research*, 78(1), 80–87. <https://doi.org/10.1017/S0022029910000841>
34. Fontecha, J., Peláez, C., Juárez, M., Martín-Hernández, M. C. (2009). Effect of freezing and frozen storage on the physicochemical, organoleptic and microbiological characteristics of a semi-hard ewes' milk cheese. *Journal of Dairy Research*, 61(1), 133–142. <https://doi.org/10.1017/S0022029900028120>
35. Tejada, L., Sánchez, E., Gómez, R., Vioque, M., Fernández-Salguero, J. (2000). Effect of freezing and frozen storage on the sensorial characteristics of los pedroches, a Spanish ewe cheese. *Journal of Sensory Studies*, 15(3), 251–262. <https://doi.org/10.1111/j.1745-459X.2000.tb00270.x>
36. Sviridenko, G. M., Kalabushkin, V. V., Shishkina, A. N., Uskova, E. E. (2020). Research on the possibility of extending the shelf life of cheese raw material and heat-treated cheese by their freezing for further use in HoReCa. *Food Systems*, 3(4), 39–44. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2020-3-4-39-44>
37. Мордвинова, В. А., Свириденко, Г. М., Остроухова, И. Л., Остроухов, Д. В. (2023). Изучение возможности выработки полутвердых сыров из замороженного козьего молока. *Пищевые системы*, 6(1), 72–79. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2023-6-1-72-79>

## REFERENCES

1. FAO (2023). Agricultural production statistics 2000–2022. FAOSTAT Analytical Briefs, No. 79. Rome, 2023. <https://doi.org/10.4060/cc9205en>
2. Mazinani, M., Rude, B. (2020). Population world production and quality of sheep and goat products. *American Journal of Animal and Veterinary Sciences*, 15(4), 291–299. <https://doi.org/10.3844/ajavsp.2020.291.299>
3. Юрова, Е. А., Мельденберг, Д. Н., Семенова, Е. С., Канина, К. А., Рыбкова, Т. О. (2017). Comparative assessment of milk of the agricultural ruminants. *Dairy Industry*, 8, 60–63. (In Russian)
4. McSweeney, P. L. H., Cotter, P. D., Everett, D. W. (2017). *Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology*. Academic Press, 2017.
5. Tamime, A. Y., Wszolek, M., Božanić, R., Özer, B. (2011). Popular ovine and caprine fermented milks. *Small Ruminant Research*, 101(1–3), 2–16. <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2011.09.021>
6. Svetlichny, S. I., Bondarenko, N. N., Merenkova, N. V., Selionova, M. I., Svistunov, S. V. (2019). Pilot project of the industrial production of sheep's milk in Kuban. *Sheep, Goats, Wool Business*, 1, 20–24. (In Russian)
7. Tribst, A. A. L., Falcade, L. T. P., de Oliveira, M. M. (2018). Strategies for raw sheep milk storage in smallholdings: Effect of freezing or long-term refrigerated storage on microbial growth. *Journal of Dairy Science*, 102(6), 4960–4971. <https://doi.org/10.3168/jds.2018-15715>
8. Buyanova, I. V., Lupinskaja, S. M., Lobacheva, E. M. (2018). Technological aspects of cold storage of protein dairy products. *Food Processing: Techniques and Technology*, 48(4), 5–11. <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2018-4-5-11> (In Russian)
9. Nurliyani, Suranindyah, Y., Pretiwi, P. (2015). Quality and emulsion stability of milk from ettawah crossed bred goat during frozen storage. *Procedia Food Science*, 3, 142–149. <https://doi.org/10.1016/j.profoo.2015.01.015>
10. Lima, L. R. do N., Negreiros, I. F. L., da Silva, E. F., Ramos, L. de S. N. (2021). Physicochemical characteristics of goat's milk submitted to different freezing periods. *Research, Society and Development*, 10(4), Article e23710414089. <https://doi.org/10.33448/rsd-v10i4.14089> (In Portuguese)
11. Yu, Z., Qiao, C., Zhang, X., Yan, L., Li, L., Liu, Y. (2022). Screening of frozen-thawed conditions for keeping nutritive compositions and physicochemical characteristics of goat milk. *Journal of Dairy Science*, 104(4), 4108–4118. <https://doi.org/10.3168/jds.2020-19238>
12. Hassan, Z., Hamzawi, L., el Naga, M. A. (2010). Effect of frozen storage on the microbiological and technological properties of buffalo's milk. *Journal of Food and Dairy Sciences*, 1(12), 765–779. <http://doi.org/10.21608/jfds.2010.82516>
13. Alshynbayev, O., Mussabekov, A., Polatova, N. (2020) The change dynamics of the biochemical composition of frozen summer and winter mare's milk at its storage. Bulletin of Shakarim University. *Technical Sciences*, (4(92)), 245–247. (In Kazakh)

14. Kruchinin, A. G., Turovskaya, S. N., Illarionova, E. E., Bigaeva, A. V. (2020). On the issue of the effect of freezing on the technological properties of milk. *Journal of International Academy of Refrigeration*, 3, 58–63. <https://doi.org/10.17586/1606-4313-2020-19-3-58-63> (In Russian)
15. Wendorff, W. L. (2001). Freezing qualities of raw ovine milk for further processing. *Journal of Dairy Sciences*, 84(Suppl), E74–E78. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(01\)70200-7](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(01)70200-7)
16. Middleditch, D., Robertson, Dr. L. J., Archer, R. H., Soboleva, T. (2022). The effect of frozen storage on sheep milk properties. New Zealand Food Safety Technical Paper No:2022/08 Retrieved from <https://www.mpi.govt.nz/dmsdocument/51265/direct> Accessed Oktober 09, 2023
17. Katsiari, M. C., Voutsinas, L. P., Kondyli, E. (2002). Manufacture of yoghurt from stored frozen sheep's milk. *Food Chemistry*, 77(4), 413–420. [https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(01\)00367-3](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(01)00367-3)
18. Moreno, M. C. R., Emata, O. C. (2022). Effects of refrigeration, freezing and blast freezing on quality of raw cow's milk. *Mindanao Journal of Science and Technology*, 20(1), 241–255. <https://doi.org/10.61310/mndjstecbe.1096.22>
19. Zhang, R. H., Mustafa, A. F., Ng-Kwai-Hang, K. F., Zhao, X. (2006). Effects of freezing on composition and fatty acid profiles of sheep milk and cheese. *Small Ruminant Research*, 64(3), 203–210. <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2005.04.025>
20. Gantner, V., Mijić, P., Baban, M., Zoran, S., Alka, T. (2015). The overall and fat composition of milk of various species. *Mljekarstvo*, 65(4), 223–231. <http://doi.org/10.15567/mljekarstvo.2015.0401>
21. Amigo, L., Recio, I., Ramos, M. (2000). Genetic polymorphism of ovine milk proteins: Its influence on technological properties of milk – a review. *International Dairy Journal*, 10(3), 135–49. [https://doi.org/10.1016/S0958-6946\(00\)00034-0](https://doi.org/10.1016/S0958-6946(00)00034-0)
22. Musembei, L. M., Bett, R. C., Gachuiri, C. K., Mbono, B. K., Kibegwa, F. M. (2021). Effects of freezing as a post-harvest storage technique on quality of Friesian crossbred cattle milk. *African Journal of Food Science*, 15(7), 298–303. <https://doi.org/10.5897/AJFS2021.2118>
23. Gaber, S. M., Johansen, A.-G., Schüller, R. B., Devold, T. G., Rukke, E.-O., Skeie, S. B. (2020). Effect of freezing temperatures and time on mineral balance, particle size, rennet and acid coagulation of casein concentrates produced by microfiltration. *International Dairy Journal*, 101, Article 104563. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2019.104563>
24. Tribst, A. A. L., Toledo, L., Falcade, P. L., Ribeiro, R., Castro B. R., Júnior, L., Oliveira, M. M. (2019). Impact of extended refrigerated storage and freezing/thawing storage combination on physicochemical and microstructural characteristics of raw whole and skimmed sheep milk. *International Dairy Journal*, 94, 29–37. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2019.02.013>
25. Pazzola, M., Dettori, M. L., Piras, G., Pira, E., Manca, F., Puggioni, O. et al. (2013). The effect of long-term freezing on renneting properties of sarda sheep milk. *Agriculturae Conspectus Scientificus*, 78(3), 275–279.
26. Biegalski, J., Cais-Sokolińska, D., Tomaszewska-Gras J., Baranowska H. M. (2021). The effect of freezing sheep's milk on the meltability, texture, melting and fat crystallization profiles of fresh pasta filata cheese. *Animals*, 11, Article 2740. <https://doi.org/10.3390/ani11092740>
27. Alinovi, M., Wiking, L., Corredig, M., Mucchetti, G. (2020). Effect of frozen and refrigerated storage on proteolysis and physicochemical properties of high-moisture citric mozzarella cheese. *Journal of Dairy Sciences*, 103(9), 7775–7790. <https://doi.org/10.3168/jds.2020-18396>
28. Alinovi, M., Mucchetti, G., Wiking, L., Corredig, M. (2020). Freezing as a solution to preserve the quality of dairy products: The case of milk, curds and cheese. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 61(20), 3340–3360. <https://doi.org/10.1080/10408398.2020.1798348>
29. Doan, N. D., Solah, V. (2020). Effects of frozen storage on the physical properties and sensory acceptability of goat's milk yoghurt. *Vietnam Journal of Agricultural Sciences*, 3(1), 487–494. <https://doi.org/10.31817/vjas.2020.3.1.01>
30. Sarica, E., Coşkun, H. (2021). Effect of frozen storage on some characteristics of kefir samples made from cow's and goat's milk. *Food Science and Technology International*, 28(2), 157–168. <https://doi.org/10.1177/10820132211003710>
31. Tejada, L., Sánchez, E., Gómez, R., Vioque, M., Fernández-Salguero, J. (2002). Effect of freezing and frozen storage on chemical and microbiological characteristics in sheep milk cheese. *Journal Food Science*, 67, 126–129. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2002.tb11371.x>
32. Digvijaya, Kelly, A. L., Lamichhane, P. (2023). Ice crystallization and structural changes in cheese during freezing and frozen storage: Implications for functional properties. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. <https://doi.org/10.1080/10408398.2023.2277357>
33. Alvarenga, N., Canada, J., Sousa, I. (2011). Effect of freezing on the rheological, chemical and colour properties of Serpa cheese. *Journal Dairy Research*, 78(1), 80–87. <https://doi.org/10.1017/S0022029910000841>
34. Fontecha, J., Peláez, C., Juárez, M., Martín-Hernández, M. C. (2009). Effect of freezing and frozen storage on the physicochemical, organoleptic and microbiological characteristics of a semi-hard ewes' milk cheese. *Journal of Dairy Research*, 61(1), 133–142. <https://doi.org/10.1017/S0022029900028120>
35. Tejada, L., Sánchez, E., Gómez, R., Vioque, M., Fernández-Salguero, J. (2000). Effect of freezing and frozen storage on the sensorial characteristics of los pedroches, a Spanish ewe cheese. *Journal of Sensory Studies*, 15(3), 251–262. <https://doi.org/10.1111/j.1745-459X.2000.tb00270.x>
36. Sviridenko, G. M., Kalabushkin, V.V., Shishkina, A. N., Uskova, E. E. (2020). Research on the possibility of extending the shelf life of cheese raw material and heat-treated cheese by their freezing for further use in HoReCa. *Food Systems*, 3(4), 39–44. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2020-3-4-39-44>
37. Mordvinova, V. A., Sviridenko, G. M., Ostroukhova, I. L., Ostroukhov, D. V. (2023). To study the possibility of producing semi-hard cheeses from frozen goat's milk. *Food Systems*, 6(1), 72–79. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2023-6-1-72-79> (In Russian)

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ	AUTHOR INFORMATION
Принадлежность к организации	Affiliation
<p><b>Мордвинова Валентина Александровна</b> — кандидат технических наук, ведущий научный сотрудник, руководитель отдела сыроделия, Всероссийский научно-исследовательский институт маслоделия и сыроделия 152613, Ярославская область, Углич, Красноармейский бульвар, 19 Тел.: +7-915-970-36-38 E-mail: v.mordvinova@fncps.ru ORCID: <a href="https://orcid.org/0000-0001-8588-7103">https://orcid.org/0000-0001-8588-7103</a></p>	<p><b>Valentina A. Mordvinova</b>, Candidate of Technical Sciences, Leading Researcher, Head of Cheese Making Department, All-Russian Scientific Research Institute of Butter- and Cheesemaking 19, Krasnoarmeysky Boulevard, Uglich, 152613, Yaroslavl Region, Russia Tel.: +7-915-970-36-38 E-mail: v.mordvinova@fncps.ru ORCID: <a href="https://orcid.org/0000-0001-8588-7103">https://orcid.org/0000-0001-8588-7103</a></p>
<p><b>Сviridenko Галина Михайловна</b> — доктор технических наук, главный научный сотрудник, руководитель отдела микробиологии, Всероссийский научно-исследовательский институт маслоделия и сыроделия 152613, Ярославская область, Углич, Красноармейский бульвар, 19 Тел.: +7-903-823-56-88 E-mail: g.sviridenko@fncps.ru ORCID: <a href="https://orcid.org/0000-0002-9586-3786">https://orcid.org/0000-0002-9586-3786</a></p>	<p><b>Galina M. Sviridenko</b>, Doctor of Technical Sciences, Leading Researcher, Head of Research Department of Microbiology, All-Russian Scientific Research Institute of Butter- and Cheesemaking 152613, Yaroslavl Region, Uglich, Krasnoarmeysky Boulevard, 19 Tel.: +7-915-970-36-38 E-mail: g.sviridenko@fncps.ru ORCID: <a href="https://orcid.org/0000-0002-9586-3786">https://orcid.org/0000-0002-9586-3786</a></p>
<p><b>Остроухова Ирина Леонидовна</b> — кандидат технических наук, старший научный сотрудник, отдел сыроделия, Всероссийский научно-исследовательский институт маслоделия и сыроделия 152613, Ярославская область, Углич, Красноармейский бульвар, 19 Тел.: +7-910-972-91-22 E-mail: i.ostroukhova@fncps.ru ORCID: <a href="https://orcid.org/0000-0001-8578-4163">https://orcid.org/0000-0001-8578-4163</a> * автор для контактов</p>	<p><b>Irina L. Ostroukhova</b>, Candidate of Technical Sciences, Senior Researcher, Department of Cheese Making, All-Russian Scientific Research Institute of Butter- and Cheesemaking 19, Krasnoarmeysky Boulevard, Uglich, 152613, Yaroslavl Region, Russia Tel.: +7-910-972-91-22 E-mail: i.ostroukhova@fncps.ru ORCID: <a href="https://orcid.org/0000-0001-8578-4163">https://orcid.org/0000-0001-8578-4163</a> * corresponding author</p>
<p><b>Остроухов Дмитрий Вячеславович</b> — научный сотрудник, отдел сыроделия, Всероссийский научно-исследовательский институт маслоделия и сыроделия 152613, Ярославская область, Углич, Красноармейский бульвар, 19 Тел.: +7-999-797-41-43 E-mail: d.ostroukhov@fncps.ru ORCID: <a href="https://orcid.org/0000-0002-7131-7887">https://orcid.org/0000-0002-7131-7887</a></p>	<p><b>Dmitry V. Ostroukhov</b>, Researcher, Department of Cheese Making, All-Russian Scientific Research Institute of Butter- and Cheesemaking 19, Krasnoarmeysky Boulevard, Uglich, 152613, Yaroslavl Region, Russia Tel.: +7-999-797-41-43 E-mail: d.ostroukhov@fncps.ru ORCID: <a href="https://orcid.org/0000-0002-7131-7887">https://orcid.org/0000-0002-7131-7887</a></p>
Критерии авторства	Contribution
<p>Авторы в равных долях имеют отношение к написанию рукописи и одинаково несут ответственность за плагиат.</p>	<p>Authors equally relevant to the writing of the manuscript, and equally responsible for plagiarism.</p>
Конфликт интересов	Conflict of interest
<p>Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.</p>	<p>The authors declare no conflict of interest.</p>



DOI: <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2024-7-1-151-156>



Received 13.08.2023

Accepted in revised 28.03.2024

Accepted for publication 31.03.2024

© Shehata E. A., Abo-Raya S. H., Baioumy A. A., 2024

Available online at <https://www.fsjour.com/jour>

Original scientific article

Open access

## IMPACT OF DIFFERENT DRYING TREATMENTS ON THE BIOCHEMICAL AND ANTIOXIDANT ACTIVITY PROPERTIES OF EGYPTIAN RED BEETROOT

Eman A. Shehata, Salah H. Abo-Raya, Ahmed A. Baioumy\*

Food Science Department, Faculty of Agriculture, Cairo University, Giza, Egypt

### KEY WORDS:

beetroots, betalains, phenolic compounds, antioxidant activity, freeze-drying

### ABSTRACT

This paper aims to provide an overview of the main findings and conclusions of the research on freshly sliced Egyptian red beetroot (*Beta vulgaris*). Beetroot belongs to the botanical family of Chenopodiaceae and encompasses various variations with bulb hues that span the spectrum from yellow to crimson. It is known that the ethanolic extract from beet contains many health-beneficial and bioactive chemicals, such as alkaloids, carotenoids, phenols, tannins, and flavonoids; it also contains vitamins C, B3, B6, and B9. Hence, the beetroot extract exhibits both antioxidant and nutritional properties. The study was conducted to investigate the effects of two different drying processes, oven-drying (OD) and freeze-drying (FD), on the physicochemical qualities of betalain pigments and antioxidants. Overall, freeze-dried (FD) samples demonstrated superior retention of beetroots proximate composition when compared to those dried in the oven. This was observed in terms of minerals and antioxidants, with freeze-drying resulting in higher levels of these components compared to oven drying. On the other hand, reductions in some phenolic compounds were found in the samples treated with the freeze-drying method when compared with the oven-drying method. It was proven that red beets have a lot of phenolic compounds, including kaempferol, caffeic acid, vanillic acid, gallic acid, catechin acid, rutin, hesperidin, naringin, quercetin, and ferulic acid.

ACKNOWLEDGEMENTS: The authors are deeply indebted to Prof. Dr. Mona M. Abdel-Mageed, Professor of Food Science Department, Faculty of Agriculture, Cairo University, for her support and great efforts in conducting this study.

Поступила 13.08.2023

Поступила после рецензирования 28.03.2024

Принята в печать 31.03.2024

© Шехата Е. М., Або-Райя С.Х., Баюми А. А., 2024

<https://www.fsjour.com/jour>

Научная статья

Open access

## ВЛИЯНИЕ РАЗЛИЧНЫХ СПОСОБОВ СУШКИ НА БИОХИМИЧЕСКИЕ И АНТИОКСИДАНТНЫЕ СВОЙСТВА ЕГИПЕТСКОЙ КРАСНОЙ СВЕКЛЫ

Шехата Е. М., Або-Райя С.Х., Баюми А. А.\*

Кафедра пищевых наук, Сельскохозяйственный факультет, Каирский университет, Гиза, Египет

### КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: АННОТАЦИЯ

свекла, бетаины, феноловые соединения, антиоксидантная активность, сублимационная сушка

Цель данной статьи — представить обзор основных результатов исследования свеженарезанной египетской красной свеклы (*Beta vulgaris*). Свекла относится к ботаническому семейству *Chenopodiaceae* и включает в себя различные разновидности с луковичными оттенками, которые охватывают спектр от желтого до малинового. Известно, что этаноловый экстракт свеклы содержит много полезных для здоровья и биологически активных веществ, таких как алкалоиды, каротиноиды, фенолы, дубильные вещества и флавоноиды; он также содержит витамины С, В3, В6 и В9. Таким образом, экстракт свеклы обладает как антиоксидантными, так и питательными свойствами. Исследование было проведено с целью изучения влияния двух различных процессов сушки — сушки в духовом шкафу (OD) и сублимационной сушки (FD) — на физико-химические свойства пигментов бетаина и антиоксидантов. В целом, образцы свеклы, подвергнутые сублимационной сушке (FD), продемонстрировали лучшее сохранение исходного состава по сравнению с образцами, высушенными в духовке. Это было отмечено в отношении минералов и антиоксидантов, при этом сублимационная сушка привела к более высокому содержанию этих компонентов по сравнению с сушкой в духовом шкафу. С другой стороны, в образцах, обработанных методом сублимационной сушки, было обнаружено снижение содержания некоторых фенольных соединений по сравнению с методом сушки в печи. Было доказано, что в красной свекле содержится много фенольных соединений, в том числе кемпферол, кофейная кислота, ванильная кислота, галловая кислота, катехиновая кислота, рутин, гесперидин, нарингин, кверцетин и феруловая кислота.

БЛАГОДАРНОСТЬ: Авторы выражают глубокую признательность профессору доктору Моне М. Абдель-Магид, профессору кафедры пищевых наук, сельскохозяйственного факультета Каирского университета, за ее значительные усилия и поддержку при проведении этого исследования.

### 1. Introduction

The *Chenopodiaceae* family consists of the red beetroot (*Beta vulgaris*) [1]. The family *Dicotyledonous* and the genus *Chenopodiaceae* include approximately 1400 species that are classified into 105 genera [1]. The species belonging to the genus *Beta vulgaris* include *Beta vulgaris* ssp. *maritima*, *Beta vulgaris* ssp. *vulgaris*, and *Beta vulgaris* ssp. *adanensis* [2]. The beetroot is an edible root of robust or tapered structure. The roots exhibit a globular or cylindrical morphology and display a range of colors, including red-purple, golden yellow, or red-white, which is contingent upon the specific beet cultivar. Beets are readily available throughout the year, and

the cold climate promotes the development of the vibrant red pigment in the beetroot. The harvesting period for beetroot in summer typically ranges from 75 to 90 days after planting, while in winter it extends to 100 to 120 days after planting. The availability of nitrogen controls the amount of beet sugar during the initial stages of development [3]. Beetroot has historically been used in traditional medicine for the treatment of several ailments, such as dandruff, stomach and joint discomfort, constipation, and other related conditions [4]. Recently, red beet extract has been used as a pharmacological intervention for hypertension, in addition to its recognized properties as an antioxidant and hypoglycemic

FOR CITATION: Shehata, E. A., Abo-Raya, S. H., Baioumy, A. A. (2024). Impact of different drying treatments on the biochemical and antioxidant activity properties of Egyptian red beetroot. *Food Systems*, 7(1), 151-156. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2024-7-1-151-156>

Для ЦИТИРОВАНИЯ: Шехата, Е. М., Або-Райя, С. Х., Баюми, А. А., (2024). Влияние различных способов сушки на биохимические и антиоксидантные свойства египетской красной свеклы. *Пищевые системы*, 7(1), 151-156. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2024-7-1-151-156>

agent [5]. Root vegetables, namely beets, include a variety of essential nutrients, including carotenoids, nitrates, flavonoids, vitamins, and minerals like calcium, magnesium, potassium, salt, phosphorus, copper, iron, zinc, and manganese. Betalains refer to a class of plant pigments that possess nitrogen and are capable of dissolving in water. The chemical structures and compositions of two betalains, namely betacyanin (a red pigment) and betaxanthin (a yellow pigment), have been ascertained. Beetroot is a highly abundant source of betanin pigment, which serves as a valuable component in dyeing various culinary products with visually appealing red or yellow hues. The determination of beetroot types and redness is contingent upon the proportion of betacyanin and betaxanthins, as established by [6]. According to [7] betaxanthin can be classified into two distinct varieties, namely vulgaxanthin-I and vulgaxanthin-II. The shell of beetroot was found to contain betacyanins, which include betanin, prebetanin, isobetanin, and neobetanin [8]. Betanin, an active component found in beetroot, comprises a significant proportion, ranging from 75% to 95%, of the total betacyanin content. The synthesis of betalain is initiated with the amino acid tyrosine.

There are a lot of phenolic compounds and phenolic acids in red beetroot [9]. These include catechin and epicatechin, as well as vanillic, p-coumaric, caffeic, protocatechuic, and ferulic acids. Previous studies have demonstrated that betalains exhibit favorable bioavailability and stability in the gastrointestinal tract, hence enhancing their potential as functional foods [10]. Numerous studies have indicated that beetroot is a significant source of phytochemicals that possess the ability to promote overall well-being. The antioxidant, anti-inflammatory, anticarcinogenic, and hepatoprotective properties of beetroot polyphenols, carotenoids, and vitamins contribute to the prevention of diabetes, reduction of blood pressure, mitigation of heart disease, and promotion of wound healing. Consequently, the inclusion of beetroot as an ingredient in many food products has been found to provide positive effects on human health, and it offers the potential for creating a wide range of nutritious food [11]. Using the red beetroot in human nutrition encompasses various applications. The use of this substance as a red food colorant is prevalent across a diverse range of applications, including tomato paste, sauces, sweets, jams and jellies, ice cream, candies, and cereals [12,13]. Additionally, it is added in dehydrated formats such as chips, tea, and powder in bakeries, as well as in food supplements and other related products. Numerous studies have shown that beetroot is a significant source of phytochemicals that possess the ability to promote overall well-being. The antioxidant, anti-inflammatory, anticarcinogenic, and hepatoprotective properties of beetroot polyphenols, carotenoids, and vitamins contribute to the prevention of diabetes, reduction of blood pressure, mitigation of heart disease, and promotion of wound healing. Consequently, the inclusion of beetroot as an ingredient in many food products has been found to provide positive effects on human health, and it offers the potential for creating a wide range of nutritious food [11].

The study's goal was to find out how different drying methods, such as oven-drying and freeze-drying, affect the physicochemical properties, antioxidant activity, and composition of phenolic and betalains compounds in beetroot that has been dried. The present study investigated the chemical composition and bioactive antioxidant properties of betalains in red beetroots. Additionally, the extraction and identification of phenolic compounds and flavonoids in beetroots were examined. Furthermore, the impact of thermal procedures on the antioxidant activity of red beetroots was assessed.

## 2. Objects and methods

### 2.1. Chemicals and reagents

- (1) Sigma Aldrich, Germany, that supplied the DPPH (2, 2-diphenyl-1-picrylhydrazyl).
- (2) El-Nasr Pharmaceutical Chemical Co., Egypt, that supplied ethanol alcohol 50%.
- (3) Sigma-Aldrich Chemie provided the Folin-Ciocalteu reagents (Steinheim, Germany). All of the used reagents were of analytical grade.

### 2.2. Plant materials

The botanical sample used in the study was *Beta vulgaris*, commonly referred to as fresh beetroot or red beet. The product was cultivated in Egypt and subsequently purchased from a nearby marketplace. The red beets underwent a cleaning process with the running tap water and were thereafter sliced.

### 2.3. Preparation of fresh beetroots

A 30-kilogram batch of entire red beetroot was used for the experiment. A representative amount was taken from this batch to evaluate its composition. Subsequently, the newly harvested beetroot roots were split

into two parts. One part was subjected to lyophilization, while the other was dried in an oven. The samples obtained were then crushed and stored at 20 °C until they were analyzed [14].

### 2.4. Drying process

#### 2.4.1. Oven-drying

The drying method in an oven is utilized for a broad range of horticulture products, such as pumpkin, red beetroot, marrow squash, and onion, among others. In this study, the beetroot samples were dried in a convection air dryer (SHEL LAB, USA) for 390 minutes at 60 °C using natural convection. The drying process was carried out according to the described method in [15].

#### 2.4.2. Freeze-drying

Initially, beetroot slices were subjected to a temperature of -20 °C for 12 hours before being placed in a freeze dryer. The freeze-drying procedure lasted for 48 hours using a vacuum freeze-dryer Advantage Plus (Virtis, Gardiner, NY, USA). The condenser temperature was set at -60 °C, and the vacuum pressure inside the dryer was 0.027 kPa. After completing the drying process, all samples were pulverized using an IKA A-11 analytical mill (Wilmington, USA) and then sifted through a No. 35-mesh sieve with a size of 500 µm (U. S. Standard Sieve Series, Dual Manufacturing Co., Illinois, USA). The powdered samples were hermetically packed in vacuum bags and kept at a temperature of 4 °C until they were ready for further analysis [16].

### 2.5. Chemical composition of raw beetroot

The chemical composition content was assessed using the methods recommended by AOAC [17], and carbohydrate was calculated by the difference.

### 2.6. Mineral content determination

The mineral composition of dried beetroot was analyzed using inductively coupled plasma-mass spectrometry (ICP-MS) (Agilent 7500, USA). A dried beetroot sample weighing 0.5 g was subjected to extraction in a heated digester using a mixture of 10 ml of 69% HNO<sub>3</sub> and concentrated HCl in a 3:1 volume-to-volume ratio (DK 20, VELP Scientifica, Milan, Italy). The extract (DISMIC-25HP, Advantec, Tokyo, Japan) was filtered using 0.2 ml PTFE syringe filters. The reference materials obtained certification from Merck, a company based in Germany [18,19].

### 2.7. Extraction Techniques of Betalain

Betalains are a group of water-soluble compounds that include nitrogen and consist of over 55 ammonium derivatives of the chromophore betalamic acid. The experiment was conducted the methodology provided by [20,21], with the subsequent alterations: A total of 1 gram of each dehydrated substance was dissolved in 10 milliliters of an ethanol solution containing 50% ethanol. The solution was agitated at a speed of 800 rpm for 10 minutes, followed by centrifugation at a speed of 6,000 rpm for 10 minutes. To obtain the highest concentration of betalains, the liquid portion was collected in two portions using centrifugal force.

### 2.8. Betalain content

The quantification of betalain content was performed using a modified methodology as described in reference [22]. The homogenizer was employed to homogenize individual samples, each weighing 50 grams, in 150 milliliters of distilled water for 1 minute. The mixture was moved to a volumetric flask and strained through a glass funnel using Whatman No. 1 filter paper. The filter cake was rinsed with distilled water until the filtrate became devoid of color. The sample was thereafter subjected to centrifugation at a speed of 10,000 rpm using (Sigma 3K30, United Kingdom) for 15 minutes. A membrane filter with a diameter of 0.45 millimeters was used to separate the supernatant. The extracts were further diluted with a phosphate buffer solution (0.05 M, pH 6.5) until the absorbance reached a range of 0.4–0.5 AU. Ultimately, the process of betalain absorption was quantified by employing (T80 UV-VIS Spectrophotometer (PG Instruments, United Kingdom), which evaluated the absorption at two specific wavelengths (476 and 538 nm) [23].

### 2.9. Total phenolics determination

The quantification of total phenols was performed by combining 0.5 mL of an extract with 2.5 mL of a 10% folin-reagent of Ciocalteu's solution, followed by incubation at room temperature for 2 minutes. Next, the combination is subjected to the addition of 2 mL of sodium carbonate solution with a concentration of 7.5%. The resulting mixture is then maintained at a temperature of 50 °C for 15 minutes. The solution was cooled to room temperature before measuring its absorbance at 760 nm using a T80 UV-VIS Spectrophotometer (PG Instruments, United Kingdom), with distilled water as a reference sample. Gallic acid was used as a reference standard, and the results were calculated as the average of

three measurements expressed in milligrams of gallic acid equivalent (GAE) per milliliter of the extract [24].

#### 2.10. Antioxidant capacity assay

The free radical scavenging activity was determined using a 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) assay. In this test, the violet color of DPPH was diminished to a faint yellow shade as a result of the extraction of a hydrogen atom from the antioxidant molecule. An observation was made that enhancing the antioxidant activity resulted in a decrease in DPPH. The test reaction mixture consisted of 100 microliters of beetroot extract obtained from independent solvent extractions at different concentrations, which were prepared by diluting the extract with the extraction solvent. Additionally, 1 milliliter of a 0.1 millimolar solution of DPPH radical in methanol was added. Following intense agitation, the mixture was subjected to incubation at a temperature of 37 °C for 30 minutes. The absorbance was measured at a wavelength of 517 nm (Jenway 6305 Spectrophotometer, United Kingdom). As a means of comparison, ascorbic acid was used as a positive control reference. The free radical scavenging activity is inversely proportional to the absorbance of the reaction mixture, as expressed by the following equation:

$$\text{DPPH scavenging activity (\%)} = 100 \times \frac{A_0 - A_1}{A_0}$$

where  $A_0$  and  $A_1$  are the control and sample absorbance, respectively.

The findings are shown as the average of three replicate analyses, with the major values and standard deviations provided [25].

#### 2.11. High-performance liquid chromatography (HPLC) analysis of phenolic acid and flavonoids in red beetroot

20 ml of a 2.0 M NaOH solution was added to 1 g of red beetroot in a quick-fit conical flask. Nitrogen gas (N<sub>2</sub>) was used to purge the flask, and the cork was subsequently reinserted. The material was subjected to magnetic stirring for four hours at ambient temperatures. The pH of the solution was subsequently modified to 2.0 by adding 6.0 M HCl. The mixture was subjected to centrifugation at a speed of 5000 rpm for 10 minutes, resulting in the recovery of the supernatant. The liquid component was extracted two times using 50 mL of a mixture consisting of equal parts of ethyl ether and ethyl acetate. The recovered solvents in the organic phases were evaporated completely at a temperature of 45 °C, resulting in a dry residue. This residue was then diluted again in 2 mL of methanol. An Agilent Technologies 1100 series liquid chromatography system with an autosampler and a diode array detector was used for the HPLC analysis. A Phenomenex Eclipse XDB-C18 analytical column of 150 mm in length and 4.6 mm in diameter, with a C18 guard column, was used in the experiment conducted in Torrance, CA. The mobile phase consisted of acetonitrile (solvent A) and a solution of 2% acetic acid in water (v/v) (solvent B) [26]. The flow rate was maintained at 0.8 ml/min during the whole 70-minute run, and the gradient program was as follows: the concentration of B decreases from 100% to 85% in 30 minutes, then from 85% to 50% in 20 minutes, then from 50% to 0% in 5 minutes, and finally increases from 0% to 100% in 5 minutes. The injection had a volume of 50 µl. The peaks corresponding to benzoic acid and cinnamic acid derivatives were simultaneously detected at the wavelengths of 280 nm and 320 nm, respectively. Before injection, all samples underwent filtration using a 0.45 ml Acrodisc syringe filter (Gelman Laboratory, MI). The retention times of the peaks were compared to those of standards and UV spectra [26].

#### 2.11. Statistical analysis.

All results were expressed as mean values ± standard deviation (SD), and values are mean three replicate analyses. Comparisons were performed by analysis of variance (ANOVA). Statistical analyses were run using SAS software.

### 3. Results and discussion

#### 3.1. Chemical properties and mineral composition of beetroot

The data about the chemical and mineral compositions, including the content of moisture, ether extract, ash, protein, crude fiber, and carbohydrate (calculated by difference), were analyzed and the findings are presented in Table 1 and Table 2.

Multiple studies indicate that the nutritional composition of fresh beetroots is affected by factors such as the variety of beetroot as well as the conditions in which it is grown and harvested [27]. Beetroot possesses a significant nutritional benefit due to its elevated sugar concentration [11]. According to the statistics from the United States Department of Agriculture, 100 g of raw beetroot has an average of 43 kcal of energy, 2.8 g of dietary fiber, 1.61 g of protein, 6.76 g of sugar, and 0.17 g of fat. Red

beetroot can be consumed as a fresh vegetable or processed into frozen or dried food. Red beetroot possesses significant potential for utilization as a bio-functional meal with substantial added value [28]. The data shown in Table 1 indicates that beetroots are a valuable source of both carbs and protein. Due to its minimal fat content and complete absence of cholesterol, it leads to reduced consumption of calories. This is a key factor contributing to its suitability for inclusion in a weight-loss regimen. The body efficiently turns the easily metabolizable sugar content of this food into energy, regardless of its relatively high carbohydrate and sugar content. For athletes, it is advantageous to have a high sucrose content and low fructose concentration in their diet, as sucrose is more useful for them than fructose [29].

Table 1. Proximate chemical composition of fresh red beetroot

Таблица 1. Приблизительный химический состав свежей красной свеклы

Chemical composition	(g/100 g)
Moisture	84.95 ± 0.09
Ether extract	1.63 ± 0.03
Ash	1.49 ± 0.05
Crude fiber	2.50 ± 0.08
Crude protein	1.49 ± 0.04
Carbohydrate	7.94

Values are mean ± SD of three replicate analyses.

The mineral composition of the dehydrated beetroot was analyzed using inductively coupled plasma-mass spectrometry (ICP-MS). The data is displayed in Table 2.

Table 2. Mineral content of red beetroot treated with different drying methods

Таблица 2. Минеральный состав красной свеклы, высушенной различными способами

Element	mg/g (DW)	
	Oven-dried	Freeze-dried
Na	95.631 ± 0.005 <sup>b</sup>	138.623 ± 0.017 <sup>a</sup>
K	40.327 ± 0.015 <sup>b</sup>	54.672 ± 0.009 <sup>a</sup>
Mg	10.889 ± 0.016 <sup>b</sup>	13.388 ± 0.015 <sup>a</sup>
In	0.293 ± 0.005 <sup>b</sup>	2.815 ± 0.011 <sup>a</sup>
B	0.014 ± 0.005 <sup>a</sup>	0.014 ± 0.004 <sup>a</sup>
Li	0.004 ± 0.001 <sup>b</sup>	0.013 ± 0.001 <sup>a</sup>
Al	0.367 ± 0.001 <sup>b</sup>	0.869 ± 0.002 <sup>a</sup>
Ca	0.479 ± 0.002 <sup>b</sup>	0.539 ± 0.001 <sup>a</sup>
Ti	0.036 ± 0.002 <sup>a</sup>	0.034 ± 0.003 <sup>b</sup>
Cr	0.022 ± 0.002 <sup>b</sup>	0.067 ± 0.005 <sup>a</sup>
Mn	0.045 ± 0.001 <sup>b</sup>	0.072 ± 0.005 <sup>a</sup>
Fe	0.090 ± 0.001 <sup>b</sup>	0.102 ± 0.002 <sup>a</sup>
Co	0.003 ± 0.001 <sup>b</sup>	0.020 ± 0.001 <sup>a</sup>
N	0.003 ± 0.001 <sup>b</sup>	0.008 ± 0.001 <sup>a</sup>
Cu	0.078 ± 0.001 <sup>b</sup>	0.112 ± 0.002 <sup>a</sup>
Zn	0.093 ± 0.001 <sup>b</sup>	0.084 ± 0.003 <sup>a</sup>
Ga	0.019 ± 0.001 <sup>b</sup>	0.078 ± 0.002 <sup>a</sup>
Sr	0.142 ± 0.002 <sup>b</sup>	0.180 ± 0.004 <sup>a</sup>
Ag	0.037 ± 0.001 <sup>a</sup>	0.020 ± 0.001 <sup>b</sup>
Cd	0.001 ± 0.001 <sup>a</sup>	0.004 ± 0.002 <sup>a</sup>
Ba	0.010 ± 0.002 <sup>b</sup>	0.024 ± 0.003 <sup>a</sup>
Pb	0.031 ± 0.002 <sup>b</sup>	0.097 ± 0.004 <sup>a</sup>
Bi	0.124 ± 0.001 <sup>b</sup>	0.778 ± 0.003 <sup>a</sup>

\* Values are mean ± SD of three replicate analyses, the letters (a, and b) represent the statistically significant differences between treatments ( $p \leq 0.05$ ).

The current study is among the limited number of research publications investigating the mineral composition of freeze-dried and oven-dried beetroot powder. Table 2 displays the mineral composition (aluminum, calcium, iron, potassium, magnesium, sodium, lithium, zinc, lead, chromium, boron, and copper) of all red beetroot samples obtained using the chemical reference technique of ICP-MS. The freeze-dried and oven-dried powder contained significant amounts of nutritional components

such as sodium (Na), potassium (K), magnesium (Mg), and indium (In). The concentrations of these components amounted to 138.6, 54.67, 13.38, and 2.8 mg/g (dry weight) for the freeze-dried powder and 95.6, 40.3, 10.89, and 0.293 mg/g (dry weight) for the oven-dried powder respectively. The range of amounts of these four elements aligned with the reference value provided by the AIJN (Association of the Industry of Juices and Nectars) from the Fruits and Vegetables of the European Union [30]. Copper (Cu) and other harmful metals such as manganese (Mn), lead (Pb), and chromium (Cr) were detected in very small quantities (0.112, 0.072, 0.097, and 0.067 mg/g (DW), respectively) and (0.078, 0.045, 0.031, and 0.022 mg/g (DW), respectively). This indicates that red beetroot is safe for human consumption and that the levels of these metals are within the acceptable limit and do not pose a health risk [30].

### 3.2. Betalain content

The primary pigments found in beetroot are called betalains, and they are found in extremely high concentrations (greater than 99.0%) [31]. Data presented in Figure 1 illustrates the samples that were prepared by the freeze-drying method were found to have the highest concentration of betacyanin pigments in the current research.

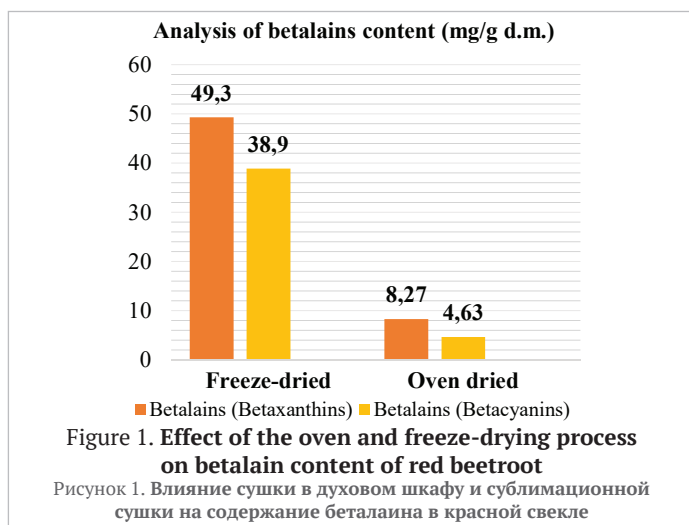


Figure 1. Effect of the oven and freeze-drying process on betalain content of red beetroot

Рисунок 1. Влияние сушки в духовом шкафу и сублимационной сушки на содержание бетаина в красной свекле

It is important to mention that the use of a temperature of 60 °C led to a decrease in the stability of betalain pigments. Compared to the freeze-dried samples, the betaxanthin and betacyanin contents decreased by 83.22% and 88.09%, respectively. Three key factors could explain this decline: at a temperature of 60 °C, the presence of a relatively high amount of water in a dried sample can speed up the breakdown of betalains [27]. It has also been observed that freeze-drying can stop the activity of endogenous enzymes like glucosidase (BGL), polyphenol oxidases (PPO), and peroxidases (POX), and this can happen at both low and slightly high temperatures. However, these enzymes would remain functional at temperatures around 60 °C, thus leading to a significant increase in the degradation of betalain pigments [5,30]. Subjecting these pigments to prolonged heating at 60 °C (for 390 minutes) can cause their degradation when betacyanins convert into decarboxylated forms, leading to alterations in the hue of the product [14,23]. The levels of betalain pigment obtained in this experiment fell within the previously reported ranges [15,27,31].

### 3.3. Effect of oven-drying, 1,5g and freeze-drying on total phenolic content and antioxidant capacity of red beetroot

Red beetroot's antioxidant properties. The impact of antioxidants on the scavenging of DPPH radicals was believed to stem from their capacity to donate hydrogen. DPPH is a persistent radical that can easily accept an electron or a hydrogen radical. This makes a stable diamagnetic molecule. We checked how well DPPH radicals could be reduced by looking at the drop in absorbance at 517 nm that antioxidants caused. The discoloration is visually visible, transitioning from purple to yellow. Additionally, phenolic compounds found in red beet have been shown to lower lipid oxidative damage, boost antioxidant status in humans, remove free radicals, reduce inflammation, fight cancer, and lower the risk of chronic diseases like cancer and heart disease [36]. For another thing, phenolic compounds are great antioxidants because of their redox potential, which lets them work as reducing agents, hydrogen donors, metal chelators, and singlet oxygen quenchers. The data in Table 3 illustrates the effect of oven-drying and freeze-drying on the total phenolic content and antioxidant capacity of the beetroot.

Table 3. Effect of oven-drying and freeze-drying on total phenolic content and antioxidant capacity of red beetroot

Таблица 3. Влияние сушки в духовом шкафу и сублимационной сушки на общее содержание фенолов и антиоксидантные свойства красной свеклы

	Drying methods	
	Oven-drying	Freeze-drying
Total phenolic acid mg/100 g dried sample	1.40 ± 0.02 <sup>b</sup>	2.19 ± 0.01 <sup>a</sup>
Antioxidant activity DPPH%	62.89 ± 0.22 <sup>b</sup>	69.05 ± 0.43 <sup>a</sup>

\* Values are mean ± SD of three replicate analyses, the letters (a, and b) represent the statistically significant differences between treatments ( $p \leq 0.05$ ).

Beetroot has several phenolic compounds that provide significant antioxidant properties. This analysis revealed the presence of betalain extracts with total phenolic content (TPC) and antioxidant properties. The freeze-dried beetroot features the highest total phenolic content (TPC). The oven-dried samples at 60 °C exhibited reduced levels of phenolic compounds, which contrasted with the results reported in [16]. Under these conditions, the TPC loss could be attributed to a range of reasons. Initially, exposure to the temperature of 60 °C for 390 minutes led to a decrease in TPC. It is worth noting that the DPPH result was identical to that stated in the referenced work [16].

### 3.4. The impact of oven-drying and freeze-drying on the overall phenolic content of red beetroot was assessed using high-performance liquid chromatography (HPLC)

Samples were put through an HPLC-DAD analysis to get a better representation of the specific phenolic compounds that were found in the betalain extracts. However, the data obtained from this analysis only provided identification of these compounds. Another extraction was performed using 50% ethanol to quantify the phenolic components in the samples. The summary results can be found in Table 4. Within this excerpt, a total of seventeen phenolic compounds were both qualitatively and quantitatively detected. Notably, pyrogallol emerged as the predominant phenol found in dehydrated beetroot.

Table 4. The impact of oven-drying and freeze-drying on the overall phenolic content of red beetroot assessed using high-performance liquid chromatography (HPLC)

Таблица 4. Влияние сушки в духовом шкафу и сублимационной сушки на общее содержание фенолов в красной свекле, определенное с помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ)

Total phenolics (mg/100 g)	Drying process	
	Oven-dried	Freeze-dried
Pyrogallol	37.79 ± 0.04 <sup>a</sup>	16.26 ± 0.06 <sup>b</sup>
Catechin	6.45 ± 0.02 <sup>a</sup>	2.36 ± 0.01 <sup>b</sup>
Protocatechoic	1.45 ± 0.01 <sup>b</sup>	4.89 ± 0.02 <sup>a</sup>
Catechol	4.61 ± 0.03 <sup>a</sup>	2.63 ± 0.01 <sup>b</sup>
chlorogenic	3.69 ± 0.05 <sup>a</sup>	0.39 ± 0.01 <sup>b</sup>
P-OH- benzoic	1.27 ± 0.02 <sup>b</sup>	3.37 ± 0.04 <sup>a</sup>
Benzoic	1.73 ± 0.02 <sup>a</sup>	1.12 ± 0.01 <sup>b</sup>
Gallic	1.26 ± 0.02 <sup>a</sup>	1.05 ± 0.01 <sup>b</sup>
4-aminobenzoic	0.62 ± 0.01 <sup>a</sup>	0.26 ± 0.02 <sup>b</sup>
Caffeic	0.54 ± 0.01 <sup>a</sup>	0.29 ± 0.01 <sup>b</sup>
Vanillic	0.97 ± 0.02 <sup>a</sup>	0.38 ± 0.01 <sup>b</sup>
P-coumaric	0.28 ± 0.03 <sup>a</sup>	0.22 ± 0.06 <sup>a</sup>
Ferulic	0.15 ± 0.03 <sup>a</sup>	0.18 ± 0.02 <sup>a</sup>
Iso-ferulic	0.26 ± 0.01 <sup>b</sup>	0.36 ± 0.01 <sup>a</sup>
α-coumaric	0.19 ± 0.03 <sup>a</sup>	0.22 ± 0.02 <sup>a</sup>
Coumarin	0.17 ± 0.01 <sup>b</sup>	0.92 ± 0.02 <sup>a</sup>
3,4,5-methoxy-cinnamic	0.72 ± 0.02 <sup>a</sup>	0.61 ± 0.01 <sup>b</sup>

\* Values are mean ± SD of three replicate analyses, the letters (a, and b) represent the statistically significant differences between treatments ( $p \leq 0.05$ ).

Table 4 illustrates the impact of processing methods on the content of phenolic acids in red beetroot. Uniform HPLC patterns of phenolic acid were observed in all processed samples, with varying amounts based on the method of treatment. Based on the information in the table, pyrogallol was the most common ingredient. Following it were catechin, protocatechoic, catechol, chlorogenic, P-OH-benzoic, benzoic, and gallic. Ferulic acid, vanillic acid, caffeic acid, coumarin, coumaric acids, and 4-amino-benzoic acid were detected in low concentrations. Beetroot exhibited

higher levels of phenolic acid in the oven-dried samples compared to the freeze-dried samples, as the drying process appears to induce the degradation of these compounds. Prior studies have shown significant reductions in phenolic compounds in the samples treated with the freeze-drying method. The authors hypothesized that the lyophilization-induced reduction in phenolics might be primarily due to structural damage to the sample cells caused by the formation of ice crystals, which could accelerate the oxidation of these chemicals [32,33,34].

The impact of oven-drying and freeze-drying on the flavonoid content of red beetroot was analyzed using high-performance liquid chromatography (HPLC). Data is presented in Table 5.

As an additional point of interest, the ethanolic extract of red beetroot contains a variety of flavonoid components, the most prevalent of which is hesperidin. Following this are naringin, rutin, rosmarinic acid, naringenin, quercetin, and apigenin. Nevertheless, traces of kaempferol, hesperetin, and quercetin were discovered in the sample. The results published in [32,35,36] were comparable. The fact that the freeze-dried samples had higher quantities of hesperidin and naringin than the dried powder in the oven suggests that the prolonged exposure to heat at those vacuum temperatures may have caused damage to the beets' cellular structure [35,36].

#### 4. Conclusion

Based on the research that was done and the information that was collected, the different ways of drying red beetroot, like oven-drying and freeze-drying, change its physicochemical properties, antioxidant activity, and the composition of phenolic and betalains compounds. Additionally, it is clear from this that the red beetroot (*Beta vulgaris*) has the potential to significantly increase the amount of nutrients consumed by both people and animals, regardless of its form. It is recommended to use the beetroot as a source of nutrients to supplement other significant sources of nutrients. Consuming vegetables throughout the year is

Table 5. Impact of oven-drying and freeze-drying on the flavonoid content of red beetroot using high-performance liquid chromatography (HPLC)

Таблица 5. Влияние печной и в духовом шкафу и сублимационной сушки на содержание флавоноидов в красной свекле, определенное при помощи высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ)

Flavonoids (mg/100 g)	Drying process	
	Oven-dried	Freeze-dried
Hesperidin	39.81 ± 0.01 <sup>b</sup>	48.47 ± 0.03 <sup>a</sup>
Naringin	1.45 ± 0.01 <sup>b</sup>	1.61 ± 0.01 <sup>a</sup>
Rosmarinic	0.32 ± 0.01 <sup>b</sup>	0.72 ± 0.02 <sup>a</sup>
Naringenin	0.27 ± 0.01 <sup>a</sup>	0.17 ± 0.01 <sup>b</sup>
Quercetrin	0.04 ± 0.01 <sup>b</sup>	0.13 ± 0.01 <sup>a</sup>
Quercetin	0.18 ± 0.01 <sup>a</sup>	0.17 ± 0.01 <sup>a</sup>
Hesperetin	0.03 ± 0.01 <sup>a</sup>	0.02 ± 0.01 <sup>a</sup>
Kaempferol	0.01 ± 0.01 <sup>a</sup>	0.01 ± 0.01 <sup>a</sup>
Apigenin	0.15 ± 0.01 <sup>a</sup>	0.01 ± 0.01 <sup>b</sup>
Rutin	1.01 ± 0.01 <sup>a</sup>	ND

\* Values are mean ± SD of three replicate analyses, the letters (a, and b) represent the statistically significant differences between treatments ( $p < 0.05$ ).

recommended since they are becoming an increasingly significant component of the human diet. As a result of its low-fat content, *B. vulgaris* is advised for people who are obese or diabetic because it does not include a significant amount of carbohydrates compared to other foods. Due to the fact that it contains a substantial amount of minerals, it is recommended to consume beetroot in order to supplement the daily needs laid forth by the FAO and the WHO for sodium, potassium, and magnesium, respectively.

## REFERENCES / БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

- Oghogho, U. I., Ekugum, E., Ogbeide, O. K., Idagan, M., Uadia, J. O., Falodun, A. (2022). Phytochemical assessment, anti-inflammatory and antimicrobial activities of *Beta vulgaris* (Chenopodiaceae) root extract. *Tropical Journal of Phytochemistry and Pharmaceutical Sciences*, 1(1), 3–8. <https://doi.org/10.26538/tjpps/v1i1.3>
- del Río, Á.R., Minoche, A. E., Zwickl, N. F., Friedrich, A., Liedtke, S., Schmidt, T. et al. (2019). Genomes of the wild beets *Beta patula* and *Beta vulgaris* ssp. *maritima*. *The Plant Journal*, 99(6), 1242–1253. <https://doi.org/10.1111/tpj.14413>
- Giampaoli, O., Sciubba, F., Conta, G., Capuani, G., Tomassini, A., Giorgi, G. et al. (2021). Red beetroot's NMR-based metabolomics: Phytochemical profile related to development time and production year. *Foods*, 10(8), Article 1887. <https://doi.org/10.3390/foods10081887>
- Madadi, E., Mazloum-Ravasan, S., Yu, J. S., Ha, J. W., Hamishehkar, H., Kim, K. H. (2020). Therapeutic application of betalains: A review. *Plants*, 9(9), Article 1219. <https://doi.org/10.3390/plants9091219>
- Kaur, S., Kaur, N., Aggarwal, P., Grover, K. (2021). Bioactive compounds, antioxidant activity, and color retention of beetroot (*Beta vulgaris* L.) powder: Effect of steam blanching with refrigeration and storage. *Journal of Food Processing and Preservation*, 45(3), Article e15247. <https://doi.org/10.1111/jfpp.15247>
- Henarejos-Escudero, P., Hernández-García, S., Guerrero-Rubio, M. A., García-Carmona, F., Gandía-Herrero, F. (2020). Antitumoral drug potential of tryptophan-betaxanthin and related plant betalains in the *Caenorhabditis elegans* tumoral model. *Antioxidants*, 9(8), Article 646. <https://doi.org/10.3390/antiox9080646>
- Spórna-Kucab, A., Tekieli, A., Grzegorzczak, A., Świątek, E., Boguszewska, A., Skalicka-Woźniak, K. (2023). Betaxanthin profiling in relation to the biological activities of red and yellow *Beta vulgaris* L. extracts. *Metabolites*, 13(3), Article 408. <https://doi.org/10.3390/metabo13030408>
- Silva, D. V. T. D., Baiao, D. D. S., Ferreira, V. F., Paschoalin, V. M. F. (2021). Betanin as a multipath oxidative stress and inflammation modulator: A beetroot pigment with protective effects on cardiovascular disease pathogenesis. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 62(2), 539–554. <https://doi.org/10.1080/10408398.2020.1822277>
- Tan, M. L., Hamid, S. B. S. (2021). Beetroot as a potential functional food for cancer chemoprevention, a narrative review. *Journal of Cancer Prevention*, 26(1), 1–17. <https://doi.org/10.15430/JCP.2021.26.1.1>
- Lasta, H. F. B., Lentz, L., Rodrigues, L. G. G., Mezzomo, N., Vitali, L., Ferreira, S. R. S. (2019). Pressurized liquid extraction applied for the recovery of phenolic compounds from beetroot waste. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 21, Article 101353. <https://doi.org/10.1016/j.cbab.2019.101353>
- Fu, Y., Shi, J., Xie, S.-Y., Zhang, T.-Y., Soladoye, O. P., Aluko, R. E. (2020). Red beetroot betalains: Perspectives on extraction, processing, and potential health benefits. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 68(42), 11595–11611. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.0c04241>
- Corrêa, R. C. G., Garcia, J. A. A., Correa, V. G., Vieira, T. F., Bracht, A., Peralta, R. M. (2019). Pigments and vitamins from plants as functional ingredients: Current trends and perspectives. Chapter in a book: *Advances in Food and Nutrition Research*. Elsevier, Inc. 2019. <https://doi.org/10.1016/bs.afnr.2019.02.003>
- Kaur, K., Singh, A.K. (2014). Drying kinetics and quality characteristics of beetroot slices under hot air followed by microwave finish drying. *African Journal of Agricultural Research*, 9(12), 1036–1044. <https://doi.org/10.5897/AJAR2013.7759>
- Sawicki, T., Martinez-Villaluenga, C., Frias, J., Wiczowski, W., Peñas, E., Bączek, N. et al. (2019). The effect of processing and *in vitro* digestion on the betalain profile and ACE inhibition activity of red beetroot products. *Journal of Functional Foods*, 55, 229–237. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2019.01.053>
- Nistor, O. V., Seremet (Ceclu), L., Andronoiu, D. G., Rudi, L., Botez, E. (2017). Influence of different drying methods on the physicochemical properties of red beetroot (*Beta vulgaris* L. var. *Cylindra*). *Food Chemistry*, 236, 59–67. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.04.129>
- Mella, C., Vega-Gálvez, A., Uribe, E., Pasten, A., Mejias, N., Quispe-Fuentes, I. (2022). Impact of vacuum drying on drying characteristics and functional properties of beetroot (*Beta vulgaris*). *Applied Food Research*, 2(1), Article 100120. <https://doi.org/10.1016/j.afres.2022.100120>
- AOAC (2023). Official Methods of Analysis of AOAC International. Retrieved from <https://www.aoc.org/official-methods-of-analysis/> Accessed June 17, 2023
- Vaitkevičienė, N., Sapronaitė, A., Kulaitienė, J. (2022). Evaluation of proximate composition, mineral elements, and bioactive compounds in skin and flesh of beetroot grown in Lithuania. *Agriculture*, 12(11), Article 1833. <https://doi.org/10.3390/agriculture12111833>
- Al-Saman, M. A., Abdella, A., Mazrou, K. E., Tayel, A. A., Irmak, S. (2019). Antimicrobial and antioxidant activities of different extracts of the peel of kumquat (*Citrus japonica* Thunb.). *Journal of Food Measurement and Characterization*, 13, 3221–3229. <https://doi.org/10.1007/s11694-019-00244-y>
- Sadowska-Bartos, I., Bartosz, G. (2021). Biological properties and applications of betalains. *Molecules*, 26(9), Article 2520. <https://doi.org/10.3390/molecules26092520>
- da Silva, H.R.P., da Silva, C., Bolanho, B. C. (2018). Ultrasonic-assisted extraction of betalains from red beet (*Beta vulgaris* L.). *Journal of Food Process Engineering*, 41(6), Article e12833. <https://doi.org/10.1111/jfpe.12833>
- Sokolova, D. V., Shvachko, N. A., Mikhailova, A. S., Popov, V. S. (2022). Betalain content and morphological characteristics of table beet accessions: Their interplay with abiotic factors. *Agronomy*, 12(5), Article 1033. <https://doi.org/10.3390/agronomy12051033>
- Prieto-Santiago, V., Cavia, M. M., Alonso-Torre, S. R., Carrillo, C. (2020). Relationship between color and betalain content in different thermally treated beetroot products. *Journal of Food Science and Technology*, 57, 3305–3313. <https://doi.org/10.1007/s13197-020-04363-z>
- Guine, R. P. F., Goncalves, F., Lerat, C., El Idrissi, T., Rodrigo, E., Correia, P. M. et al. (2018). Extraction of phenolic compounds with antioxidant activity from beetroot (*Beta vulgaris* L.). *Current Nutrition and Food Science*, 14(4), 350–357. <https://doi.org/10.2174/1573401315666170609102336>
- Lembong, E., Utama, G. L., Saputra, R. A. (9–10 October, 2018). *Phytochemical Test, Vitamin C Content and Antioxidant Activities Beet Root (Beta vulgaris Linn.) Extracts as Food Coloring Agent from Some Areas in Java Island*. IOP Conference Series: Earth and Environmental Science, Conference on Sustainability Science. Bandung, Indonesia, 2019. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/306/1/012010>

26. El-Mesallamy, A.M.D., Abd El-Latif, A. El-S., Abd El-Azim, M.H., Mahdi, M.G.M., Hussein, S.A.M. (2020). Chemical composition and biological activities of red beetroot (*Beta Vulgaris Linnaeus*) roots. *Egyptian Journal of Chemistry*, 63(1), 239–246. <https://doi.org/10.21608/ejchem.2019.17977.2092>
27. Thalhamer, B., Buchberger, W. (2019). Adulteration of beetroot red and paprika extract-based food colorant with *Monascus* red pigments and their detection by HPLC-QToF MS analyses. *Food Control*, 105, 58–63. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2019.05.020>
28. USDA. (2019). Beets, raw (SR Legacy, 169145). Retrieved from <https://fdc.nal.usda.gov/fdc-app.html#/food-details/169145/nutrients> Accessed June 14, 2023.
29. Székely, D., Máté, M. (2022). Red Beetroot (*Beta Vulgaris* L.). Chapter in a book: *Advances in Root Vegetables Research*. IntechOpen, 2022. <https://doi.org/10.5772/intechopen.106692>
30. Chumroenphat, T., Somboonwatthanakul, I., Saensouk, S., Siriamornpun, S. (2021). Changes in curcuminoids and chemical components of turmeric (*Curcuma longa* L.) under freeze-drying and low-temperature drying methods. *Food Chemistry*, 339, Article 128121. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.128121>
31. Nirmal, N. P., Mereddy, R., Maqsood, S. (2021). Recent developments in emerging technologies for beetroot pigment extraction and its food applications. *Food Chemistry*, 356, Article 129611. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.129611>
32. El-Beltagi, H. S., Mohamed, H. I., Megahed, B. M. H., Gamal, M., Safwat, G. (2018). Evaluation of some chemical constituents, antioxidant, antibacterial, and anticancer activities of *Beta vulgaris* L. root. *Fresenius Environmental Bulletin*, 27(9), 6369–6378.
33. Gomes, W. F., França, F. R. M., Denadai, M., Andrade, J. K. S., da Silva Oliveira, E. M., de Brito, E. S. et al. (2018). Effect of freeze-and spray-drying on physico-chemical characteristics, phenolic compounds, and antioxidant activity of papaya pulp. *Journal of Food Science and Technology*, 55, 2095–2102. <https://doi.org/10.1007/s13197-018-3124-z>
34. Vega-Gálvez, A., Poblete, J., Quispe-Fuentes, I., Uribe, E., Bilbao-Sainz, C., Pastén, A. (2019). Chemical and bioactive characterization of papaya (*Vasconcellea pubescens*) under different drying technologies: Evaluation of antioxidant and antidiabetic potential. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 13, 1980–1990. <https://doi.org/10.1007/s11694-019-00117-4>
35. Pyo, Y.-H., Lee, T.-C., Logendra, L., Rosen, R. T. (2004). Antioxidant activity and phenolic compounds of Swiss chard (*Beta vulgaris subspecies cyclopa*) extracts. *Food Chemistry*, 85(1), 19–26. [https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(03\)00294-2](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(03)00294-2)
36. Georgiev, V.G., Weber, J., Kneschke, E.-M., Denev, P.N., Bley, T., Pavlov, A.I. (2010). Antioxidant activity and phenolic content of betalain extracts from intact plants and hairy root cultures of the red beetroot *Beta vulgaris* cv. Detroit dark red. *Plant Foods for Human Nutrition*, 65, 105–111. <https://doi.org/10.1007/s11130-010-0156-6>



AUTHOR INFORMATION	СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ
<b>Affiliation</b>	<b>Принадлежность к организации</b>
<p><b>Eman A. Shehatta</b>, Master Student, Department of Food Science, Faculty of Agriculture, Cairo University 1 Gamaa Street, Giza, 12613, Egypt Tel.: +2-011-508-04-825 Email: emanabdefattah194@gmail.com ORCID: <a href="https://orcid.org/0009-0009-4523-7902">https://orcid.org/0009-0009-4523-7902</a></p>	<p><b>Шехата Е. А.</b> — магистрант, кафедра пищевых наук, сельскохозяйственный факультет, Каирский Университет 12613, Египет, Гиза, ул. Гамаа, 1 Тел.: +2-011-508-04-825 Email: emanabdefattah194@gmail.com ORCID: <a href="https://orcid.org/0009-0009-4523-7902">https://orcid.org/0009-0009-4523-7902</a></p>
<p><b>Salah Hussien Abo-Raya</b>, Professor, Department of Food Science, Faculty of Agriculture, Cairo University 1 Gamaa Street, Giza, 12613, Egypt Tel.: +2-012-231-999-31 Email: aborayasalah1947@yahoo.com ORCID: <a href="https://orcid.org/9051-5346-0001-0009">https://orcid.org/9051-5346-0001-0009</a></p>	<p><b>Або-Райя С. Х.</b> — профессор, кафедра пищевых наук, сельскохозяйственный факультет, Каирский Университет 12613, Египет, Гиза, ул. Гамаа, 1 Тел.: +2-012-231-999-31 Email: aborayasalah1947@yahoo.com ORCID: <a href="https://orcid.org/9051-5346-0001-0009">https://orcid.org/9051-5346-0001-0009</a></p>
<p><b>Ahmed A. Baioumy</b>, Assistant Professor, Department of Food Science, Faculty of Agriculture, Cairo University 1 Gamaa Street, Giza, 12613, Egypt Tel.: +2-011-428-55-347 E mail: ahmedadel35@agr.cu.edu.eg ORCID: <a href="https://orcid.org/0000-0002-2909-603X">https://orcid.org/0000-0002-2909-603X</a> * corresponding author</p>	<p><b>Баюми А. А.</b> — доцент, кафедра пищевых наук, сельскохозяйственный факультет, Каирский Университет 12613, Египет, Гиза, ул. Гамаа, 1 Тел.: +2-011-428-55-347 Email: ahmedadel35@agr.cu.edu.eg ORCID: <a href="https://orcid.org/0000-0002-2909-603X">https://orcid.org/0000-0002-2909-603X</a> * автор для контактов</p>
<b>Contribution</b>	<b>Критерии авторства</b>
<p>Authors equally relevant to the writing of the manuscript, and equally responsible for plagiarism.</p>	<p>Авторы в равных долях имеют отношение к написанию рукописи и одинаково несут ответственность за плагиат.</p>
<b>Conflict of interest</b>	<b>Конфликт интересов</b>
<p>The authors declare no conflict of interest.</p>	<p>Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.</p>

DOI: <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2024-7-1-157-164>



Поступила 04.11.2023

Поступила после рецензирования 29.03.2024

Принята в печать 31.03.2024

© Пирогова Е. Н., Топникова Е. В., Данилова Е. С., 2024

<https://www.fsjour.com/jour>

Научная статья

Open access

## ИЗУЧЕНИЕ ВОЗМОЖНОСТИ ПРИМЕНЕНИЯ МАСЛА, ВЫРАБОТАННОГО МЕТОДОМ ПРЕОБРАЗОВАНИЯ ВЫСОКОЖИРНЫХ СЛИВОК, ПРИ ИЗГОТОВЛЕНИИ СЛОЕНЫХ ИЗДЕЛИЙ

Пирогова Е. Н., Топникова Е. В., Данилова Е. С.\*

Всероссийский научно-исследовательский институт маслоделия и сыроделия, Углич, Ярославская область, Россия

### КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: АННОТАЦИЯ

*сливочное масло, метод производства, жирнокислотный состав, твердые триглицериды, слоеное тесто, круассан*

В статье представлены сравнительные исследования состава, физико-химических и структурно-механических показателей образцов сливочного масла, изготовленных методом преобразования высокожирных сливок (ПВЖС) из отечественного сырья, и масла выработанного методом сбивания сливок в маслоизготовителях непрерывного действия (ССМНД). Также в работе продемонстрировано их влияние на процесс формирования слоеного теста и на органолептические свойства готовых изделий из него. Цель исследований — оценка пригодности сливочного масла, выработанного методом ПВЖС, для изготовления слоеного теста и изделий из него. В качестве контрольных образцов служили новозеландские образцы масла, производимые методом ССМНД и часто используемые при изготовлении изделий из слоеного теста в кафе. В качестве опытных образцов были применены типичные образцы сливочного масла российского производства, изготовленные методом ПВЖС. По результатам исследований были установлены различия в жирнокислотном составе изученных образцов масла по содержанию лауриновой, миристиновой, пальмитиновой и линолевой кислот. Было выявлено, что в диапазоне от 20 до 30 °, т. е. в тех условиях, при которых проходят операции раскатки и расстойки теста, опытные образцы масла характеризовались относительно более высокими показателями содержания твердых триглицеридов и твердости. Это обусловило снижение пластичности масла и его способности к раскатке. На основании сравнительных исследований структурно-механических свойств масла было установлено, что для улучшения его характеристик, необходимых для равномерной раскатки пласта масла, целесообразно понижение значения твердости при одновременном повышении значения восстанавливаемости структуры масла. Было сделано заключение о том, что такие характеристики для масла, изготавливаемого методом ПВЖС, возможно получить за счет корректировки состава масла и режимов его производства, а понижение значений содержания ТГГ — активным влиянием на рацион кормления животных в разные периоды года.

Received 04.11.2023

Accepted in revised 29.03.2024

Accepted for publication 31.03.2024

© Pirogova E. N., Topnikova E. V., Danilova E. S., 2024

Available online at <https://www.fsjour.com/jour>

Original scientific article

Open access

## STUDYING THE POSSIBILITY OF USING BUTTER PRODUCED BY THE METHOD OF CONVERTING HIGH FAT CREAM IN THE PRODUCTION OF PUFF PRODUCTS

Ekaterina N. Pirogova, Elena V. Topnikova, Ekaterina S. Danilova\*

All-Russian Scientific Research Institute of Butter- and Cheesemaking, Uglich, Yaroslavl Region, Russia

### KEY WORDS:

*butter, churning cream, fatty acid composition, solid triglycerides, puff pastry, croissant*

### ABSTRACT

The article presents comparative studies of the composition, physico-chemical and structural-mechanical characteristics of butter samples produced by the method of converting high-fat cream from domestic raw materials, and foreign-made butter by churning cream in continuous buttermakers, as well as their influence on the process of puff pastry formation and the organoleptic properties of finished products made from puff pastry. The purpose of the research is to assess the suitability of butter produced by the method of converting high-fat cream for the production of puff pastry and products made from it. New Zealand butter samples produced by the method of churning cream in continuous butter makers and often used in the manufacture of puff pastry products in cafes served as control samples. Typical samples of Russian-made butter produced by the method of converting high-fat cream were used as experimental samples. Based on the research results, differences in the fatty acid composition of the studied butter samples were established in terms of the content of lauric, myristic, palmitic and linoleic acids. It was revealed that in the range from 20 to 30 °, i. e., in conditions under which the dough rolling and proofing operations take place, the experimental butter samples were characterized by relatively higher levels of solid triglycerides and hardness. This caused a decrease in the plasticity of the butter and its ability to roll out. Based on comparative studies of the structural and mechanical properties of the butter, it was established that in order to improve its characteristics necessary for uniform rolling of the butter layer, it is advisable to lower the hardness value while simultaneously increasing the value of the butter structure recoverability. It has been concluded that such characteristics for butter produced by the method of converting high-fat cream can be obtained by adjusting the composition of the butter and its production modes, and a decrease in the solid triglycerides can be achieved by active influence of the diet of animals in different periods of the year.

### 1. Введение

В качестве жиров для слоеного теста используют маргарин, специальные жировые продукты и сливочное масло, при этом каждый из перечисленных компонентов обладает уникальным составом и характеристиками [1,2]. Эти жировые продукты используются как для заме-

са, так и для слоения теста. Их главная функция заключается в разделении слоев теста и в создании однородной, равномерной и слоистой структуры, обеспечивающей большой подъем изделий при выпечке.

Вопросы использования маргаринов и специальных жиров российского производства для этих целей достаточно хорошо про-

ДЛЯ ЦИТИРОВАНИЯ: Пирогова, Е. Н., Топникова, Е. В., Данилова, Е. С. (2024). Изучение возможности применения масла, выработанного методом преобразования высокожирных сливок, при изготовлении слоеных изделий. *Пищевые системы*, 7(1), 157-164. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2024-7-1-157-164>

FOR CITATION: Pirogova, E. N., Topnikova, E. V., Danilova, E. S. (2024). Studying the possibility of using butter produced by the method of converting high fat cream in the production of puff products. *Food Systems*, 7(1), 157-164. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2024-7-1-157-164>

работаны в ранее выполненных исследованиях [3–5]. В них обобщаются требования к температуре плавления, к твердости и пластичности используемого жира, к содержанию твердого жира и к размерам жировых кристаллов, а также к реологическим характеристикам, к количеству используемого жирового продукта и к соотношению жировой и водной фазы в нем.

В отношении сливочного масла российского производства, пригодного для этих целей, таких системных требований не установлено. Актуальность исследований в этом плане обосновывается тем, что современный потребитель обращает все больше внимания не только на внешний вид, вкус и запах, но и на состав продукта, и все чаще отдает свои предпочтения тем пищевым продуктам, которые не содержат гидрогенизированных жиров, красителей, ароматизаторов и других компонентов. По этой причине сливочное масло становится более востребованным жировым компонентом для приготовления слоеного теста, особенно в кофейнях, самостоятельно изготавливающих изделия из него [6,7]. При приготовлении круассанов в условиях заведений общественного питания ранее установилась практика применения масла преимущественно зарубежного производства.

Следует отметить, что во многих странах сливочное масло уже давно считается лучшим выбором для производства выпечки, такой как круассаны. Использование сливочного масла обеспечивает создание легких и воздушных слоев с красивой хрустящей корочкой, что играет важную роль в формировании органолептических характеристик продукта. В связи с этим сливочное масло как сырье для слоеного теста нередко является предметом исследований зарубежных ученых. Так, в работе Pilcher [8] доказано, что вкус и свойства натурального сливочного масла положительно влияют на качество слоеного теста. В зарубежных исследованиях [9–12] также доказано, что сливочное масло, содержащее в своем составе жира свыше 80%, более технологично при изготовлении слоеного теста. Оно не рвется при раскатывании, не образует пузырей и не создает проблем при автоматизированном способе производства теста.

Для улучшения технологических свойств сливочного масла-сырья для производства теста зарубежными исследователями [9,13] предложено проводить его модификацию путем фракционирования. Введение в состав масла низкоплавких фракций молочного жира привело к увеличению его растяжимости без разрывов при нагрузке на тесто и к более высокому его подъему при выпечке.

Важным критерием для сливочного масла при изготовлении слоеного теста за рубежом считается хорошая пластичность за счет снижения его твердости. При подготовке теста масло подвергается значительным физическим воздействиям, давлению и напряжению при различных температурах, поэтому пластичность необходима для того, чтобы масло равномерно распределялось по поверхности теста и оставалось в виде равномерной прослойки между слоями, не разрушаясь при его раскатывании и складывании.

Технологические свойства используемого сливочного масла обусловлены его составом и свойствами молочного жира [14]. Химический состав молочного жира предопределяется породой животных, сезоном года, составом кормовой базы, а пластические свойства сливочного масла зависят от технологии его изготовления [15,16]. Так, например, профиль жирных кислот зависит от времени года: чем больше в рационе скота свежей травы, тем больше ненасыщенных жирных кислот в составе триглицеридов молочного жира. Следовательно, содержание твердых фракций жира будет меньше, что неизбежно отразится на консистенции сливочного масла [17]. Исследованиями доказано, что снижение твердости масла возможно не только за счет подбора режимов кормления и породы животных, а также с помощью корректирования технологических режимов его выработки [18,19].

На технологические свойства оказывает влияние и способ производства сливочного масла. За рубежом сливочное масло вырабатывают преимущественно методом сбивания сливок с использованием маслоизготовителей непрерывного действия. В Российской Федерации в большей степени преобладает метод преобразования высокожирных сливок (ПВЖС). Технологические особенности производства обуславливают формирование различных типов структуры продукта. При выработке масла методом сбивания сливок формируется коагуляционно-кристаллизационный тип структуры, благодаря которому продукт имеет достаточно высокую плотность и пластичность. Масло, полученное методом ПВЖС, имеет кристаллизационно-коагуляционный тип структуры. Кристаллизационные связи такого масла хуже восстанавливаются, а при деформации сжатия быстрее разрушаются. Поэтому такое масло может обладать большей ломкостью и меньшей устойчивостью структуры в сравнении с маслом, выработанным сбиванием сливок [20,21,22].

При выработке сладко-сливочного масла в зарубежной практике нет обязательного требования к обеспечению выраженного привкуса пастеризации. Практикуются технологические операции дезодорации сливок, промывки масляного зерна и вакуумной обработки пласта масла, которые, как правило, не применяются на российских заводах при переработке сливок в масло методом ПВЖС [23]. Отмеченные особенности технологии обуславливают отличие вкусового букета российского сладко-сливочного масла от зарубежного. Согласно действующему ГОСТ 32261–2013<sup>1</sup>, отечественный продукт характеризуется приятным сливочным вкусом с выраженным привкусом пастеризации.

Таким образом, сливочное масло, выработанное методом ПВЖС и имеющее определенные отличия от масла, выработанного ССМНД, может оказать влияние на процесс изготовления слоеного теста и изделий из него. Вместе с тем состав и привлекательные органолептические характеристики традиционных видов сливочного масла, а также возможность влиять на их пластические свойства посредством разных сырьевых и технологических факторов делает его интересным объектом исследования для данного целевого применения. Особенно это важно в современных условиях снижения поставок масла зарубежного производства, которое использовала часть производителей изделий из слоеного теста. В большинстве регионов отмечают трудности, связанные с закупкой такого жирового сырья, и ищут ему альтернативную замену [24,25], а производители сливочного масла пытаются разобраться, каким оно должно быть, чтобы удовлетворить запросы кондитеров.

Цель исследований — изучить возможность применения сливочного масла, вырабатываемого преобразованием высокожирных сливок, при изготовлении изделий из слоеного теста и обосновать возможные пути корректировки его состава и свойств с целью улучшения его целевого назначения.

## 2. Объекты и методы

### 2.1. Объекты и методы при исследовании жирового сырья

Объектами исследования были типичные образцы сливочного масла, произведенные методом сбивания сливок в маслоизготовителях непрерывного действия — тип 1 (Новая Зеландия) и методом ПВЖС — тип 2 (Россия), а также жировая фаза, выделенная из них.

Для выделения жировой фазы из масла пробу продукта массой 40–50 г расплавляли в химическом стакане на водяной бане (термостат с перемешиванием типа WB-4MS, SIA Biosan, Латвия) при температуре 65 °С, выдерживали до полного расслоения. Жировой слой фильтровали в сушильном шкафу (термостат электрический суховоздушный ТС-1/80 СПУ, Смоленское СКТБ СПУ, Россия) через складчатый фильтр и использовали для последующих анализов.

Состав образцов масла определяли по ГОСТ 32261–2013.

Органолептическая оценка образцов проводилась согласно ГОСТ 32261–2013.

Термоустойчивость определяли по ГОСТ 32261–2013.

Твердость устанавливали по ГОСТ 32189–2013<sup>2</sup>. Температура сливочного масла при испытаниях — (10 ± 1) °С.

Восстанавливаемость структуры. Показатель определяли по соотношению величин твердости разрушенной структуры масла к неразрушенной (исходной), выраженной в процентах. Разрушение структуры масла проводили механическим путем с помощью приспособления типа цилиндр-поршень (прибор Николаева) (цилиндр с поршнем, ФГБУ ЭМЗ, Россия). В плотно набитом сливочным маслом цилиндре при температуре 10–12 °С 60-кратно повторяли возвратно-поступательные движения поршнем, тем самым нарушая исходную консистенцию. Затем накалывали масло с разрушенной структурой в формочку и при этой же температуре выдерживали в течение суток. Далее масло в формочке разрезали на приборе Каминского, измеряя твердость после разрушения структуры.

Вытекание жидкого жира. Для определения показателя пробу масла в форме кубика со стороной 3,5 см помещали на 5 слоев фильтровальной бумаги, уложенной в чашку Петри, и выдерживали в термостате при температуре 25 °С в течение 24 ч. После этого пробу охлаждали при 5 °С в течение 30 мин, осторожно удаляли с бумаги остатки масла. Количество вытекшего жира (в %) рассчитывали по формуле:

<sup>1</sup> ГОСТ 32261–2013 «Масло сливочное. Технические условия». — М.: Стандартинформ, 2019. — 21 с.

<sup>2</sup> ГОСТ 32189–2013 «Маргарины, жиры для кулинарии, кондитерской, хлебопекарной и молочной промышленности. Правила приемки и методы контроля». — М.: Стандартинформ, 2014. — 35 с.



$$M_{вж} = \frac{(c-a) \times 100}{(b-a)} \quad (1),$$

где  $a$  — масса чашки с фильтровальной бумагой, г;  $b$  — масса чашки с фильтровальной бумагой и пробой масла, г;  $c$  — масса чашки с фильтровальной бумагой, пропитанной жиром, свободно вытекшим из пробы масла, г.

**Содержание эмульгированного жира.** Для определения показателя в стеклянный химический стакан помещали навеску масла в количестве 10 г и 90 мл дистиллированной воды ( $t_{воды} = 65^\circ\text{C}$ ). Содержимое стакана тщательно перемешивали и помещали в водяную баню (термостат с перемешиванием типа WB-4MS, SIA Biosan, Латвия) при температуре  $65^\circ\text{C}$  на 5 минут, затем переливали в делительную воронку и оставляли в покое на 5 минут. Далее сливали нижний слой жидкости в объеме 80 мл в колбу и охлаждали до  $20^\circ\text{C}$ . В ней же определяли показатель массовой доли жира с помощью молочного жиросмера (жиросмер (бутирометр) для молока, Химлаборприбор, Россия) и вычисляли по формуле:

$$D = \frac{P \times 10}{(100 - Ж)} \times 100\% \quad (2),$$

где  $P$  — показание жиросмера;  $Ж$  — массовая доля жира в исследуемом продукте, %.

Структурно-механические показатели масла (твердость, восстанавливаемость структуры, вытекание жидкого жира, содержание эмульгированного жира), не нормируемые по ГОСТ 32261-2013, использовали как дополнительные критерии оценки пластичности масла и характеристики степени обращения фаз [26].

Температура плавления жира определялась по ГОСТ 32189-2013.

**Жирнокислотный состав** образцов сливочного масла. Метилловые эфиры жирных кислот получали по ГОСТ 31665-2012<sup>3</sup>. Определение жирнокислотного состава проводили методом газовой хроматографии по ГОСТ 32915-2014<sup>4</sup>.

Массовую долю твердых триглицеридов (ТТГ) определяли методом импульсного ядерно-магнитного резонанса с использованием анализатора Minispek mq20 (Bruker, USA) прямым методом измерения по ГОСТ 31757-2012<sup>5</sup>.

## 2.2. Объекты и методы при исследовании слоеного теста и изделий из него

Объектами изучения были слоеное тесто и готовые круассаны после выпечки. Для их оценки на данном этапе исследований применяли визуальные методы: признаками качества считали способность к раскатыванию, отсутствие свободной влаги и свободного жира при раскатке и выпечке готовых изделий, слоистость внешнего вида. При развитии исследований в данном направлении представляется целесообразным использование в дальнейшей работе инструментальных методов исследований.

Для изготовления круассанов была использована классическая рецептура слоеного дрожжевого теста с заменой маргарина на сливочное масло, представленная в Таблице 1 [27].

Таблица 1. Рецепт образцов круассанов [27]

Table 1. Recipe for croissant samples [27]

Наименование ингредиента	Дозировка, %	Дозировка, кг
Мука пшеничная в/с	100,0	0,500
Молоко сухое	4,0	0,020
Дрожжи хлебопекарные прессованные	5,0	0,025
Соль	1,8	0,009
Сахар	10,0	0,050
Масло в тесто	5,0	0,025
Масло на слоение	43,5	0,218
Вода	49,0	0,245
Итого	—	1,092

<sup>3</sup> ГОСТ 31665-2012 «Масла растительные и жиры животные. Получение метиловых эфиров жирных кислот». — М.: Стандартинформ, 2015. — 8 с.

<sup>4</sup> ГОСТ 32915-2014 «Молоко и молочная продукция. Определение жирнокислотного состава методом газовой хроматографии». — М.: Стандартинформ, 2015. — 10 с.

<sup>5</sup> ГОСТ 31757-2012 «Масла растительные, жиры животные и продукты их переработки. Определение содержания твердого жира методом импульсного ядерно-магнитного резонанса». — М.: Стандартинформ, 2014. — 16 с.

Процесс изготовления круассанов включал в себя традиционные технологические операции приготовления дрожжевого теста: замес теста, деление теста, подготовка сливочного масла, раскатка и слоение теста, формование тестовых заготовок, расстойка и выпечка [27].

**Замес теста.** Было выполнено два замеса теста на каждый образец масла. Сырье было предварительно подготовлено: сыпучие продукты просеяны; соль, сахар, дрожжи растворялись в теплой воде при температуре  $25-27^\circ\text{C}$ ; вода, используемая для замеса, была охлаждена до температуры  $0-4^\circ\text{C}$ . Для каждого образца масла выполняли замес вручную. Время замеса 10 мин. Температура готового теста составляла около  $30^\circ\text{C}$ .

**Деление теста.** После замеса тесто обоих образцов было разделено на равные куски массой 200 г и охлаждено в холодильном шкафу при температуре  $8^\circ\text{C}$  до температуры  $16-18^\circ\text{C}$ .

**Подготовка сливочного масла.** Сливочное масло было нарезано и раскатано в пласты прямоугольной формы высотой приблизительно 1,0 см. Подготовленное масло охлаждено в холодильном шкафу до температуры  $10-12^\circ\text{C}$ .

**Раскатка и слоение теста.** Тесто было раскатано в форму прямоугольника. Сливочное масло (подготовленный пласт) с температурой  $14^\circ\text{C}$  размещено в середину, закрыто краями теста и прокатано.

Для обоих образцов цикл слоения был проведен три раза с охлаждением теста между циклами в холодильном шкафу в течение 30 мин.

**Формование тестовых заготовок.** Тесто было раскатано в пласт прямоугольной формы и разделено на полоски шириной 8–10 см, далее полоски разрезались по горизонтали на две части. Кусок теста был разделен по диагонали и свернут в «улитку», уложен на лист пергамента на расстоянии друг от друга примерно 5 см.

**Расстойка и выпечка.** Расстойка изделий происходила при температуре  $26^\circ\text{C}$  и относительной влажности воздуха  $75-80\%$  в течение 20 мин. Изделия выпекались в течение 15 мин при температуре  $200^\circ\text{C}$ .

При раскатке слоев теста с образцами сливочного масла визуально оценивали их прочность (образуются или отсутствуют трещины, надрывы), а также степень интеграции масла в слой теста (вытекание или отсутствие вытекания масла при раскатке из слоев теста). Готовые изделия визуально оценивали по высоте и по степени многослойности. Фотографии получали при помощи камеры смартфона.

## 2.3. Математическая обработка данных

Исследования проводили в 3–5-кратной повторности по каждому типу исследованных образцов масла. Обработку полученных данных и построение графиков осуществляли с использованием компьютерной программы Microsoft Excel 2016. Для оценки статистически значимых различий между образцами масла применяли однофакторный дисперсионный анализ ANOVA. Для проведения парного сравнения выборок использовали апостериорные критерии Тьюки. Статистически значимый результат оценивали при  $p \leq 0,05$ .

## 3. Результаты и обсуждение

Результаты исследований состава образцов масла приведены в Таблице 2.

Таблица 2. Состав образцов масла

Table 2. Composition of butter samples

Тип образцов масла	Массовая доля жира, %		Массовая доля влаги, %*	Массовая доля СОМО, %
	указанная на упаковке	фактическая		
1	82,9	82,6 ± 1,0	15,7 ± 0,2	1,8 ± 0,1
2	82,5	81,7 ± 1,0	16,3 ± 0,2	2,0 ± 0,1

Примечание: данные приведены в форме «среднее значение ± стандартное отклонение». Данные в столбцах существенно не различаются ( $p > 0,05$ ), кроме показателей в столбце со знаком «\*» при  $p \leq 0,05$

По показателю массовой доли жира (Таблица 2) образцы сливочного масла с учетом предела допускаемой погрешности результатов измерений при доверительной вероятности 0,95 соответствовали ГОСТ 32261-2013. В обоих типах образцов масла среднее отклонение по массовой доле влаги не превышало установленной погрешности метода ( $\pm 0,3\%$ ). Следовательно, по показателю массовой доли влаги образцы соответствовали требованиям нормативного документа на данный вид продукции. В образцах второго типа, полученных ПВЖС, было отмечено несущественное относительное повышение массовой доли влаги, которое не должно сказаться на выделении влаги при раскатке теста.

Таблица 3. Органолептическая оценка образцов масла  
Table 3. Organoleptic evaluation of butter samples

Тип образцов масла	Вкус и запах		Консистенция		Цвет	
	Характеристика	баллы	Характеристика	баллы	Характеристика	баллы
1	Сливочный вкус, привкус вытопленного жира, без посторонних привкусов и запахов	8,0 ± 0,3	Плотная, пластичная, однородная, слегка замедленное таяние	5,0 ± 0,4	Желтый, однородный по всей массе	2,0 ± 0,2
2	Сливочный вкус и привкус пастеризации, без посторонних привкусов и запахов	8,5 ± 0,3	Пластичная, плотная, однородная, легкоплавкая	5,0 ± 0,3	Бледно-желтый, однородный по всей массе	2,0 ± 0,2

Экспертами дегустационной комиссии была проведена органолептическая оценка исследуемых образцов масла (вкус и запах, цвет и консистенция). Данные органолептической оценки приведены в Таблице 3.

Для высшего сорта сливочного масла согласно ГОСТ 32261–2013 предъявлены особые требования: оценка за вкус и запах не менее 8,0 баллов, оценка за консистенцию не менее 4,0 баллов, оценка за цвет не ниже 2,0 баллов.

Исходя из данных Таблицы 3, оценка за вкус и запах исследованных образцов масла соответствовала значениям, характерным для масла сливочного высшего сорта. Следует отметить, что образцы типа 1 отличались более замедленным таянием в отличие от образцов масла типа 2. Это обусловлено различием климатических условий, рационов кормления и пород лактирующих животных в странах, где производилось масло [28,29,30], а также особенностями структуры масла, выработанного методом непрерывного сбивания, что согласуется с ранее проведенными исследованиями [31,32].

Именно благодаря привкусу пастеризации в образцах масла второго типа балл за вкус и запах оказался выше, чем в образцах первого типа. Поскольку в технологии производства сливочного масла за рубежом нет требований к высокотемпературной обработке сливок, выраженного привкуса пастеризации в таком масле не следовало ожидать, что подтвердилось результатами исследований. Наличие сливочности и выраженного привкуса пастеризации в отечественном масле может благоприятно отразиться на органолептических характеристиках готового кондитерского изделия, в рецептуре которого оно будет применяться.

Структурно-механические показатели исследованных образцов приведены в Таблице 4.

Таблица 4. Структурно-механические показатели образцов масла

Table 4. Structural and mechanical properties of butter samples

Наименование показателя	Значение показателей для типа образцов масла	
	1	2
Термоустойчивость, ед.	0,63 ± 0,05	0,71 ± 0,04
Температура плавления жира, °С	31,7 ± 0,5	31,9 ± 0,5
Твердость, Н/м*	154,0 ± 3,0	204,0 ± 4,0
Восстанавливаемость структуры, %*	95,5 ± 5,0	80,9 ± 5,0
Вытекание жидкого жира, %*	7,7 ± 0,3	8,6 ± 0,5
Содержание эмульгированного жира, %	следы	следы

Примечание: данные приведены в форме «среднее значение ± стандартное отклонение». Данные в столбцах существенно не различаются ( $p > 0,05$ ), кроме показателей в строке со значком «\*» при  $p \leq 0,05$

Значение показателя содержания эмульгированного жира на уровне следовых количеств указывает на то, что, независимо от метода производства, исследованные образцы сливочного масла характеризуются как жировой продукт с обратным типом дисперсии — «вода в масле», пригодным для использования в составе слоеного теста.

По показателю термоустойчивости, характеризующему способность масла сохранять свою форму при повышенных температурах, установлено, что образцы масла второго типа отличались более высокой термоустойчивостью в сравнении с образцами первого типа. Это объясняется относительно повышенным показателем массовой доли СОМО в данных образцах и, соответственно, усилением его роли в формировании структуры масла. В целом исследованные опытные образцы характеризовались удовлетворительной или хорошей термоустойчивостью (по ГОСТ 32261–2013 она должна быть не ниже 0,7). Вариативность показателя термоустойчивости образцов масла, изготовленных ССМНД (тип 1), лежала в области более низких значений.

Величина показателя температуры плавления, при которой жир переходит из твердого состояния в капельно-жидкое, зависит от соотношения жирных кислот в молекуле триглицеридов, то есть от используемого сырья, и служит определяющим показателем при формировании вкусовых качеств готового продукта [30]. Из данных Таблицы 4 следует, что образцы масла обладали схожими между собой по величине значениями температуры плавления жира.

Значение твердости, оцениваемое как показатель способности масла оказывать сопротивление при его разрезании, выше у образцов второго типа. Высокие значения данного показателя свидетельствуют о более развитой кристаллической решетке в продукте, которая разрушается при большем усилии, что и было в дальнейшем отмечено при раскатке теста в пласт. Повышенная твердость масла второго типа провоцировала образование разрывов пласта масла при раскатке, при использовании масла первого типа этого не наблюдалось.

Восстанавливаемость структуры, характеризующая степень обратимости связей в структурной решетке продукта, косвенно указывает на развитость коагуляционной структуры в продукте. Идеальной считается коагуляционно-кристаллизационная структура продукта с преобладанием коагуляционной (при этом продукт одновременно является плотным, термоустойчивым и пластичным). В образцах масла первого типа данный показатель характеризовался большим значением в сравнении с маслом второго типа. Этот факт является закономерным, учитывая влияние метода производства масла на его консистенцию. Кристаллизационные связи масла, выработанного методом ПВЖС, восстанавливаются хуже, что также негативно влияет на пластичность масла при раскатке.

Способность продукта удерживать жидкий жир относится к показателю вытекания жидкого жира. Равномерное его распределение и хорошее удерживание способствуют повышению пластичности продукта. Излишне высокое значение этого показателя свидетельствует о недостаточно равномерном распределении жидкого жира и об удерживании его в каркасе из твердого жира, что может обусловить слоистость консистенции, низкую термоустойчивость и повлиять на более быстрое окисление жира при хранении продукта. Для масла традиционного состава (жира  $\geq 80\%$ ) с хорошим распределением жидкого жира этот показатель должен находиться в пределах от 7% до 9%. В образцах масла первого типа значение этого показателя говорит о более хорошем удерживании жира в пласте масла, что обычно сопровождается замедленным таянием, отмечаемым в ранее выполненных работах [31,32]. В образцах второго типа этот показатель выше, что коррелирует с органолептической оценкой, при которой отмечалась большая легкоплавкость масла.

Жирнокислотный состав жировой фазы образцов сливочного масла представлен в Таблице 5.

Жирнокислотный состав жировой фазы образцов масла обоих типов соответствовал значениям, регламентируемым нормативным документом на данный вид продукции. Небольшие различия отмечены в содержании пальмитиновой кислоты, которая является одной из основных насыщенных кислот молочного жира и характеризуется высокой точкой плавления и застывания, придавая маслу более твердую консистенцию, что коррелирует со структурно-механическими показателями исследованных образцов масла и согласуется с результатами других исследований [18].

Соотношения метиловых эфиров и их групп в образцах типа 1 и 2 представлены в Таблице 6 и имеют значения, соответствующие ГОСТ 32261–2013. В связи с различием в составе отдельных жирных кислот в образцах масла второго типа первые три коэффициента соотношений являются более высокими, чем у образцов масла первого типа.

Основным показателем, определяющим технологические свойства жиров, является содержание твердых триглицеридов (ТТТ) при различных температурах [18,34], поэтому этот показатель рассматривался и для оценки образцов сливочного масла для слоеного теста.

Таблица 5. Жирнокислотный состав образцов масла  
Table 5. Fatty acid composition of butter samples

Условное обозначение жирной кислоты, ее наименование	Содержание жирных кислот, %			
	Молочный жир, выделенный из образцов масла		Согласно ГОСТ 32261–2013 (Приложение Б)	
	Тип 1	Тип 2	Молочный жир (Новая Зеландия)	Молочный жир (Россия)
C <sub>4:0</sub> Масляная	3,20 ± 0,30	3,11 ± 0,29	2,4–4,2	
C <sub>6:0</sub> Капроновая	2,23 ± 0,20	2,13 ± 0,20	1,5–3,0	
C <sub>8:0</sub> Каприловая	1,40 ± 0,09	1,30 ± 0,09	1,0–2,0	
C <sub>10:0</sub> Каприновая <sup>a</sup>	3,16 ± 0,11	2,86 ± 0,10	2,0–3,8	
C <sub>10:1</sub> Деценовая <sup>a</sup>	0,22 ± 0,01	0,25 ± 0,01	0,2–0,4	
C <sub>12:0</sub> Лауриновая <sup>a</sup>	4,74 ± 0,11	3,23 ± 0,07	2,0–5,7	2,0–4,4
C <sub>14:0</sub> Миристиновая <sup>a</sup>	11,16 ± 0,19	10,27 ± 0,17	8,0–13,0	
C <sub>14:1</sub> Миристолеиновая <sup>a</sup>	1,43 ± 0,03	1,60 ± 0,03	0,6–1,5	
C <sub>16:0</sub> Пальмитиновая <sup>a</sup>	26,22 ± 0,25	28,68 ± 0,27	21,0–33,0	
C <sub>16:1</sub> Пальмитолеиновая <sup>a</sup>	2,88 ± 0,05	2,64 ± 0,04	1,5–2,4	
C <sub>18:0</sub> Стеариновая <sup>a</sup>	10,87 ± 0,11	10,41 ± 0,10	8,0–13,5	
C <sub>18:1</sub> Олеиновая <sup>*</sup>	24,18 ± 0,28	24,65 ± 0,29	19,0–33,0	20,0–32,0
C <sub>18:2</sub> Линолевая <sup>a</sup>	3,25 ± 0,12	3,49 ± 0,13	2,2–5,5	
C <sub>18:3</sub> Линоленовая <sup>a</sup>	0,72 ± 0,03	0,61 ± 0,03	До 1,5	
C <sub>20:0</sub> Арахидиновая <sup>a</sup>	0,14 ± 0,01	0,17 ± 0,01	До 0,3	
C <sub>22:0</sub> Бегеновая	0,07 ± 0,01	0,07 ± 0,01	До 0,1	
Прочие	4,13 ± 0,25	4,53 ± 0,27	4,0–6,5	

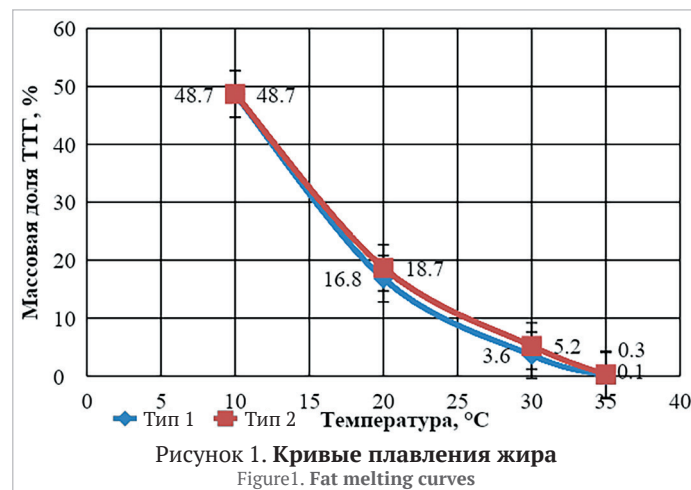
\* В сумме изомеров.  
Примечание: данные приведены в форме «среднее значение ± стандартное отклонение». Данные в столбцах существенно не различаются (p > 0,05), кроме показателей в строке со значком «а», где (p < 0,05)

Таблица 6. Соотношения метиловых эфиров и их групп  
Table 6. Ratios of methyl esters and their groups

Соотношения метиловых эфиров и их групп	Молочный жир, выделенный из образцов масла		Границы соотношений в молочном жире согласно ГОСТ 32261–2013	
	Тип 1	Тип 2	Молочный жир (Новая Зеландия)	Молочный жир (Россия)
Пальмитиновой (C <sub>16:0</sub> ) к лауриновой (C <sub>12:0</sub> )	5,5	8,9	5,0–14,5	5,8–14,5
Стеариновой (C <sub>18:0</sub> ) к лауриновой (C <sub>12:0</sub> )	2,3	3,2	1,7–5,9	1,9–5,9
Олеиновой* (C <sub>18:1</sub> ) к миристиновой (C <sub>14:0</sub> )	2,2	2,4	1,5–3,6	1,6–3,6
Линолевой* (C <sub>18:2</sub> ) к миристиновой (C <sub>14:0</sub> )	0,3	0,3	0,1–0,5	
Суммы олеиновой* и линолевой* к сумме лауриновой, миристиновой, пальмитиновой и стеариновой	0,5	0,5	0,4–0,7	

При проведении исследований был выбран диапазон температур, охватывающий технологические операции, связанные с раскаткой и подготовкой слоеного теста к выпечке. График зависимости массовой доли ТТГ образцов масла от температуры представлены кривой плавления на Рисунке 1. Анализ кривой плавления жира позволяет выявить ряд характеристик масла (твердость, ломкость, пластичность, способность к раскатке) и позволяет численно их представить. Согласно данным O'Brien, оптимальная текстура готового теста требует равномерного распределения жирового слоя без разрывов при многократном раскатывании [18]. Оптимальные технологические режимы обработки теста находятся в узком температурном

диапазоне (15–20 °С), при котором масло становится податливым, но не излишне мягким. Исследованиями Naegens [19] доказано, что разрывы слоя масла, обычно вызванные несоответствием мягкости масла и теста, приводят к проблемам при изготовлении теста и влияют на качество готового продукта в целом. Согласно данным Renzetti [12], слой масла с низким содержанием ТТГ в диапазоне рабочих температур будет увеличиваться посредством налипания с каждым последующим шагом листового проката. Этот процесс создает благоприятные условия для образования «карманов» в тесте, которые служат каналами для выхода пара, что негативно влияет на высоту и текстуру готового изделия. Тогда как использование сливочного масла с высоким содержанием ТТГ при раскатке и расстойке теста способствует физическому разрыву его слоев [18].



Из данных Рисунка 1 видно, что тенденции в изменении кривых плавления двух образцов масла идентичны. Кривые носят пологий характер. Небольшие различия в показателях наблюдаются в диапазоне температур выше 12–14 °С, более выраженные различия выявлены в диапазоне температур от 20 °С и выше, именно в тех условиях, при которых проходили операции раскатки и расстойки теста. Более низкие показатели ТТГ в образцах масла первого типа положительно повлияли на эти операции.

Массовая доля твердых триглицеридов при температуре 20 °С определяет такие структурно-механические свойства, как твердость и ломкость. Чем выше доля ТТГ, тем тверже жир, что коррелирует со значениями полученных показателей твердости. Чем выше массовая доля ТТГ при температуре 25–30 °С, тем выше термоустойчивость жира, что также соотносится с полученными значениями показателя термоустойчивости образцов масла. Количество ТТГ в интервале температур 30–35 °С обуславливает органолептические свойства продукта: высвобождение ароматических веществ и появление либо отсутствие обволакиваемости неба при потреблении продуктов с высоким содержанием жира [35]. Низкое содержание ТТГ при данной температуре в обоих образцах коррелирует с достаточно высокими балловыми оценками за вкус и запах обоих типов образцов.

Исходя из представленных данных, можно предположить, что сливочное масло российского производства с массовой долей жира выше 80,0%, выработанное методом ПВЖС, может быть пригодно для использования в качестве жирового сырья при изготовлении слоеного теста. Вместе с тем есть необходимость корректирования значений его твердости и восстанавливаемости структуры, а также значений показателей содержания ТТГ в нем для обеспечения более высоких его технологических свойств с целью эффективного применения в качестве компонента в слоеном тесте.

Изучение процесса приготовления слоеного теста показало, что при раскатке теста контрольные образцы масла (тип 1) были более пластичными, плотными и удобными в работе. Тесто и масло раскатывались равномерно. Тогда как слой масла второго типа (опыт) при механическом воздействии рвался, по краям быстро плавился (Рисунок 2). Для его раскатки потребовалось большее физическое усилие, но выделения влаги и свободного жира во время его раскатки не отмечалось.

В процессе расстойки изделия из слоеного теста, приготовленного с использованием контрольных и опытных образцов масла, поднимались равномерно, с образованием пузырьков воздуха, вытекания жира не наблюдалось (Рисунок 3).



Рисунок 2. Раскатка слоя масла  
Figure 2. Rolling out a layer of butter



Рисунок 3. Изделие после расстойки  
Figure 3. Product after proofing



Рисунок 4. Готовые изделия  
Figure 4. Finished products

Изображение готовых изделий представлено на Рисунке 4 в общем виде и в разрезе.

Изделия, изготовленные с использованием опытных и контрольных образцов масла, имели блестящую светло-коричневую поверхность, отчетливо просматриваемые слои, обладали выраженным сливочным ароматом, характерным для данного вида изделия. Более выраженный аромат в готовых продуктах был отмечен при использовании российского сливочного масла, изготовленного методом ПВЖС. Полученные результаты и их интерпретация согласуются с данными зарубежных исследователей [12, 18, 19] о влиянии сливочного масла на качество готовых слоеных изделий.

#### 4. Выводы

На основании представленных результатов исследований обоснована возможность применения сливочного масла для изготовления

слоеного теста, выработанного методом ПВЖС и позволяющего получать готовые изделия с характерным внешним видом и приятным вкусом и запахом. С учетом меньшей пластичности этого вида масла в сравнении с зарубежными образцами, изготавливаемыми методом сбивания сливок в маслоизготовителях непрерывного действия, необходимо в дальнейших исследованиях обосновать условия производства масла, обеспечивающие следующее изменение показателей его качества:

- понижение значения твердости при одновременном повышении значения восстанавливаемости структуры масла, которые возможно получить за счет корректировки режимов маслообразования;
- понижение значений содержания ТТГ за счет активного влияния на рацион кормления животных в разные периоды года;
- повышение значений массовой доли жира в масле при одновременном снижении СОМО и влаги, что может способствовать меньшей деструкции пласта масла при его раскатке.

При проведении дальнейших исследований целесообразно для объективизации результатов исследований дополнительно использовать инструментальные методы оценки слоеного теста и изделий из него.

## БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Андреев, А. Н. (2013). Классификация и реологическая оценка качества слоеных хлебобулочных изделий. *Научный журнал НИУ ИТМО. Серия «Процессы и аппараты пищевых производств»*, 2(16), статья 1.
2. Hopkin, R. (2016). The way of the Croissant: Traditional perspectives on a traditional pastry. *Digest: A Journal of Foodways and Culture*, 5(2), n. pag.
3. Дремучева, Г. Ф., Невский, А. А., Носова, М. В. (2012). Влияние вида маргарина и технологии приготовления теста на качество дрожжевых и бездрожжевых слоеных изделий. *Хлебопечение России*, 2, 18–20.
4. Духу, Т. А., Бурлова, И. А., Зотова, О. А. (2012). Влияние функциональности и технологичности маргаринов на качество кондитерских изделий. *Кондитерское и хлебопекарное производство*, 8(152), 22–24.
5. Иванова, Е. С. (2013). Разработка технологии слоеных изделий на основе ржаной муки. Автореф. дис. канд. техн. наук. Санкт-Петербург: Санкт-Петербургский национальный исследовательский университет информационных технологий, механики и оптики. — 18 с.
6. Павлова, А. С., Головинская, О. В., Плотноикова, П. А., Бенденко, Е. А. (2020). Технологические особенности изготовления дрожжевых слоеных изделий на основе сливочного масла. *Вестник Международной академии холода*, 4, 77–83. <https://doi.org/10.17586/1606-4313-2020-19-4-77-84>
7. Román, S., Sánchez-Siles, L. M., Siegrist, M. (2017). The importance of food naturalness for consumers: Results of a systematic review. *Trends in Food Science and Technology*, 67, 44–57. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2017.06.010>
8. Pilcher, J. M. (2017). *Food in world history*. Routledge, New York, 2017. <https://doi.org/10.4324/9781315718941>
9. Ramirez, S. (2020). Impact of butterfat content and composition on the quality of laminated pastries. Author's abstract of the thesis for the degree of Master of Science in Food Science and Technology. Oregon State University, 2020.
10. Silow, C., Zannini, E., Axel, C., Belz, M. C. E., Arendt, E.K. (2017). Optimization of fat reduced puff pastry using response surface methodology. *Foods*, 6(2), Article 15. <https://doi.org/10.3390/foods6020015>
11. Garvey, E. (2020). Understanding aroma and flavour formation in baked confectionery products, as influenced by sugar and fat. Author's abstract of the dissertation for the scientific degree of Doctoral. University College Cork, 2020.
12. Renzetti, S., De Harder, R., Jurgens, A. (2015). Puff pastry with low saturated fat contents: The role of fat and dough physical interactions in the development of a layered structure. *Journal of Food Engineering*, 170, 24–32. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2015.09.009>
13. Reddy, S. Y. (2010). Improving plasticity of milk fat for use in baking by fractionation. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 87(5), 493–497. <https://doi.org/10.1007/s11746-009-1520-2>
14. Mattice, K. D., Wright, A. J., Marangoni, A. G. (2020). Crystallization and Rheological Properties of Milk Fat. Chapter in a book: *Advanced Dairy Chemistry, Volume 2*. Springer, Cham. [https://doi.org/10.1007/978-3-030-48686-0\\_8](https://doi.org/10.1007/978-3-030-48686-0_8)
15. Bohlouli, M., Yin, T., Hammami, H., Gengler, N., König, S. (2021). Climate sensitivity of milk production traits and milk fatty acids in genotyped Holstein dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 104(6), 6847–6860. <https://doi.org/10.3168/jds.2020-19411>
16. Salvian, M., Silveira, R. M. F., Petrini, J., Rovadoscki, G. A., de Souza I., H., Ramirez-Diaz, J. et al. (2023). Heat stress on breeding value prediction for milk yield and composition of a Brazilian Holstein cattle population. *International Journal of Biometeorology*, 67, 347–354. <https://doi.org/10.1007/s00484-022-02413-z>
17. Заболотин, Г. Ю., Мирошина, С. Е. (28–30 октября, 2019). Исследования по влиянию рационов кормления крупного рогатого скота на изменение жирнокислотного состава молочного жира. Перспективные исследования и новые подходы к производству и переработке сельскохозяйственного сырья и продуктов питания. XIII Международная научно-практическая конференция молодых ученых и специалистов организаций в сфере сельскохозяйственных наук. Углич, Россия, 2019.
18. O'Brien, R. D. (2009). *Fats and oils. Formulating and processing for applications*. CRC Press, 2009. <https://doi.org/10.1201/9781420061673>
19. Haegens, N. (2014). *Pastries*. Chapter in a book: *Bakery Products Science and Technology*. John Wiley and Sons, Ltd., 2014. <https://doi.org/10.1002/9781118792001.ch34>
20. Топникова, Е. В., Гуща, Ю. М. (2020). Диалог о масле: какой метод производства лучше. *Молочная промышленность*, 7, 28–30.

21. Топникова, Е. В. (2020). Основные процессы при изготовлении масла из сливок разными методами. *Молочная промышленность*, 5, 50–53. <https://doi.org/10.31515/1019-8946-2020-05-50-53>
22. Топникова, Е. В., Дунаев, А. В., Захарова, М. Б. (2020). О технологиях и оборудовании для поточного производства сливочного масла. *Сырделие и маслоделие*, 5, 50–54. <https://doi.org/10.31515/2073-4018-2020-5-50-54>
23. Вышемирский, Ф. А. (2015). Энциклопедия маслоделия. Углич, Россия, 2015.
24. Соргутов, И. В. (2022). Санкции, как основной фактор политики протекционизма и импортозамещения в АПК России. *Russian Economic Bulletin*, 5(1), 279–282.
25. Цветкова, П. И., Дубова, И. Ю. (2021). Импортозамещение в пищевой промышленности России в условиях санкций. *Вестник Челябинского государственного университета*, 3(449), 258–264. <https://doi.org/10.47475/1994-2796-2021-10331>
26. Вышемирский, Ф. А. (2013). Физическая структура и консистенция сливочного масла. *Сырделие и маслоделие*, 3, 53–56.
27. Васюкова, А. Т., Жилина, Т. С. (2022). Организация процесса приготовления и приготвление сложных хлебобулочных, мучных кондитерских изделий. М.: КноРус, 2022.
28. Li, S., Ye, A., Singh, H. (2022). Seasonal variations in the characteristics of milk fat and the whipping properties of cream. *International Dairy Journal*, 127, Article 105288. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2021.105288>
29. Li, S., Delger, M., Dave, A., Singh, H., Ye, A. (2022). Seasonal variations in the composition and physicochemical characteristics of sheep and goat milks. *Foods*, 11(12), Article 1737. <https://doi.org/10.3390/foods11121737>
30. Loveday, S. M., Fraser, K., Luo, D., Weeks, M., Cakebread, J. A. (2021). A multivariate snapshot of New Zealand milk seasonality in individual cows. *International Dairy Journal*, 114, Article 104940. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2020.104940>
31. Рудаков, О. Б., Лесникова, Э. П., Полянский, К. К., Семенова, И. Н. (2020). Товарный менеджмент и экспертиза жировых товаров. С-Пб: Лань, 2020.
32. Топникова, Е. В., Стаховский В. А. (2015). Влияние оборудования на качество сливочного масла традиционного состава. *Сырделие и маслоделие*, 1, 47–50.
33. Вышемирский, Ф. А. (2014). Оценка качества и сортность сливочного масла. *Сырделие и маслоделие*, 4, 53–56.
34. Парамонова, А. С., Степычева, Н. В. (26–28 февраля 2020). Оценка триглицеридного состава и свойств специализированных маргаринов. XII Международная конференция «Торты. Вафли. Печенье. Пряники-2020. Производство–Рынок–Потребитель», Москва: Международная промышленная академия. Москва, 2020.
35. Баранова, З. А., Красина, И. Б., Красин, П. С. (2016). Новые виды жиров в производстве кондитерских глазурей. *Электронный сетевой политематический журнал «Научные труды КубГТУ»*, 14, 322–328.

## REFERENCES

1. Andreev, A. N. (2013). Classification and evaluation of rheological quality of puff pastries. *Scientific Journal NRU ITMO. Series «Processes and Apparatuses of Food Production»*, 2(16), Article 1. (In Russian)
2. Hopkin, R. (2016). The way of the Croissant: Traditional perspectives on a traditional pastry. *Digest: A Journal of Foodways and Culture*, 5(2), n. pag.
3. Dremucheva, G. F., Nevsky, A. A., Nosova, M. V. (2012). Impact that margarine type and dough preparing technology have on quality of yeast and yeast-free splits. *Bakery of Russia*, 2, 18–20. (In Russian)
4. Dukhu, T. A., Burlova, I. A., Zotova, O. A. (2012). Effect of functionality and manufacturability of margarines on quality of confectionery products. *Confectionery and Bakery Production*, 8(132), 22–24. (In Russian)
5. Ivanova, E. S. (2013). Development of technology of puffed products based on rye flour. Author's abstract of the dissertation for the degree of Candidate of Technical Sciences. St. Petersburg: St. Petersburg National Research University of Information Technology, Mechanics and Optics. — 18 p. (In Russian)
6. Pavlova, A. S., Golovinskaya, O. V., Plotnikova, P. A., Bendenko, E. A. (2020). Technological features of the yeast puff pastry made from creamery butter. *Journal of International Academy of Refrigeration*, 4, 77–83. <https://doi.org/10.17586/1606-4313-2020-19-4-77-84> (In Russian)
7. Román, S., Sánchez-Siles, L. M., Siegrist, M. (2017). The importance of food naturalness for consumers: Results of a systematic review. *Trends in Food Science and Technology*, 67, 44–57. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2017.06.010>
8. Pilcher, J. M. (2017). Food in world history. Routledge, New York, 2017. <https://doi.org/10.4324/97813151718941>
9. Ramirez, S. (2020). Impact of butterfat content and composition on the quality of laminated pastries. Author's abstract of the thesis for the degree of Master of Science in Food Science and Technology. Oregon State University, 2020.
10. Silow, C., Zannini, E., Axel, C., Belz, M. C. E., Arendt, E. K. (2017). Optimization of fat reduced puff pastry using response surface methodology. *Foods*, 6(2), Article 15. <https://doi.org/10.3390/foods620015>
11. Garvey, E. (2020). Understanding aroma and flavour formation in baked confectionery products, as influenced by sugar and fat. Author's abstract of the dissertation for the scientific degree of Doctoral. University College Cork, 2020.
12. Renzetti, S., De Harder, R., Jurgens, A. (2015). Puff pastry with low saturated fat contents: The role of fat and dough physical interactions in the development of a layered structure. *Journal of Food Engineering*, 170, 24–32. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2015.09.009>
13. Reddy, S. Y. (2010). Improving plasticity of milk fat for use in baking by fractionation. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 87(5), 493–497. <https://doi.org/10.1007/s11746-009-1520-2>
14. Mattice, K. D., Wright, A. J., Marangoni, A. G. (2020). Crystallization and Rheological Properties of Milk Fat. Chapter in a book: *Advanced Dairy Chemistry, Volume 2*. Springer, Cham. [https://doi.org/10.1007/978-3-030-48686-0\\_8](https://doi.org/10.1007/978-3-030-48686-0_8)
15. Bohlouli, M., Yin, T., Hammami, H., Gengler, N., König, S. (2021). Climate sensitivity of milk production traits and milk fatty acids in genotyped Holstein dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 104(6), 6847–6860. <https://doi.org/10.3168/jds.2020-19411>
16. Salvian, M., Silveira, R. M. F., Petrini, J., Rovadoscki, G. A., de Souza Iung, H., Ramirez-Díaz, J. et al. (2023). Heat stress on breeding value prediction for milk yield and composition of a Brazilian Holstein cattle population. *International Journal of Biometeorology*, 67, 347–354. <https://doi.org/10.1007/s00484-022-02413-z>
17. Zabolotin, G. Yu., Miroshina, S. E. (October 28–30, 2019). *Studies of an effect of cattle diets on the change in fatty acid composition of milk fat*. Promising studies and new approaches to production and processing of agricultural raw materials and food products. The 13th International scientific-practical conference of young scientists and specialists of organizations in the sphere of agricultural sciences. Uglich, Russia, 2019. (In Russian)
18. O'Brien, R. D. (2009). Fats and oils. Formulating and processing for applications. CRC Press, 2009. <https://doi.org/10.1201/9781420061673>
19. Haegens, N. (2014). Pastries. Chapter in a book: *Bakery Products Science and Technology*. John Wiley and Sons, Ltd., 2014. <https://doi.org/10.1002/9781118792001.ch34>
20. Topnikova, E. V., Gushcha, Yu. M. (2020) Butter dialogue: Which production method is better? *Dairy Industry*, 7, 28–30. (In Russian)
21. Topnikova, E. V. (2020). Basic processes of butter production from cream using various methods. *Dairy Industry*, 5, 50–53. <https://doi.org/10.31515/1019-8946-2020-05-50-53> (In Russian)
22. Topnikova, E. V., Dunaev, A. V., Zakharova, M. B. (2020). About technologies and equipment for continuous butter production. *Cheesemaking and Buttermaking*, 5, 50–54. <https://doi.org/10.31515/1019-8946-2020-07-28-30> (In Russian)
23. Vyshemirskii, F. A. (2015). The encyclopedia of buttermaking, Uglich, Russia, 2015. (In Russian)
24. Sorgutov, I. V. (2022). Sanctions as the main factor of the policy of protectionism and import substitution in the Agro-Industrial Complex of Russia. *Russian Economic Bulletin*, 5(1), 279–282. (In Russian)
25. Tsvetkova, P. I., Dubova, Yu. I. (2021). Import substitution in the food industry. *Bulletin of Chelyabinsk State University*, 3(449), 258–264. <https://doi.org/10.47475/1994-2796-2021-10331> (In Russian)
26. Vyshemirskii, F. A. (2013). Physical structure and consistency of the dairy butter. *Cheesemaking and Buttermaking*, 3, 53–56. (In Russian)
27. Vasyukova, A. T., Zhilina, T. S. (2022). Organization of the production process and production of complex bakery and bakery confectionary products. Moscow: KnoRus, 2022. (In Russian)
28. Li, S., Ye, A., Singh, H. (2022). Seasonal variations in the characteristics of milk fat and the whipping properties of cream. *International Dairy Journal*, 127, Article 105288. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2021.105288>
29. Li, S., Delger, M., Dave, A., Singh, H., Ye, A. (2022). Seasonal variations in the composition and physicochemical characteristics of sheep and goat milks. *Foods*, 11(12), Article 1737. <https://doi.org/10.3390/foods11121737>
30. Loveday, S. M., Fraser, K., Luo, D., Weeks, M., Cakebread, J. A. (2021). A multivariate snapshot of New Zealand milk seasonality in individual cows. *International Dairy Journal*, 114, Article 104940. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2020.104940>
31. Rudakov, O. B., Lesnikova, E. P., Polyansky, K. K., Semenova, I. N. (2020). Commodity management and examination of fatty goods. St. Petersburg: Lan, 2020. (In Russian)
32. Topnikova, E. V., Stahovskii V. A. (2015). Effects of the equipment on the quality of the dairy butter with traditional composition. *Cheesemaking and Buttermaking*, 1, 47–50. (In Russian)
33. Vyshemirskii, F. A. (2014). Assessment of quality and grades of the dairy butter. *Cheesemaking and Buttermaking*, 4, 53–56. (In Russian)
34. Paramonova, A. S., Stepycheva, N. V. (February 26–28, 2020). *Assessment of triglyceride composition and properties of specialized margarines*. The 12<sup>th</sup> International conference “Cakes. Wafers. Cookies. Spice-cakes” — 2020. Production. Market. Consumer”. International Industrial Academy. Moscow, 2020.
35. Baranova, Z. A., Krasina, I. B., Krasin, P. S. (2016). New kinds of fats in confectionery glaze. *Electronic Network Polythematic Journal «Scientific Works of KUBSTU»*, 14, 322–328. (In Russian)

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ	AUTHOR INFORMATION
<b>Принадлежность к организации</b>	<b>Affiliation</b>
<p><b>Пирогова Екатерина Николаевна</b> — научный сотрудник, отдел маслоделия, Всероссийский научно-исследовательский институт маслоделия и сыроделия 152613, Ярославская область, Углич, Красноармейский бульвар, 19 Тел.: +7-901-171-26-51 E-mail: e.pirogova@fncps.ru ORCID: <a href="https://orcid.org/0000-0002-2732-3059">https://orcid.org/0000-0002-2732-3059</a></p> <p><b>Топникова Елена Васильевна</b> — доктор технических наук, заместитель директора по научной работе, Всероссийский научно-исследовательский институт маслоделия и сыроделия 152613, Ярославская область, Углич, Красноармейский бульвар, 19 Тел.: +7-910-666-93-93 E-mail: e.topnikova@fncps.ru ORCID: <a href="https://orcid.org/0000-0003-0225-6870">https://orcid.org/0000-0003-0225-6870</a></p> <p><b>Данилова Екатерина Сергеевна</b> — научный сотрудник, отдел маслоделия, Всероссийский научно-исследовательский институт маслоделия и сыроделия 152613, Ярославская область, Углич, Красноармейский бульвар, 19 Тел.: +7-960-527-61-48 E-mail: e.danilova@fncps.ru ORCID: <a href="https://orcid.org/0000-0001-5522-224X">https://orcid.org/0000-0001-5522-224X</a> * автор для контактов</p>	<p><b>Ekaterina N. Pirogova</b>, Researcher, Buttermaking Department, All-Russian Scientific Research Institute of Butter- and Cheese-making 19, Krasnoarmeysky Boulevard, Uglich, 152613, Yaroslavl Region, Russia Tel.: +7-901-171-26-51 E-mail: e.pirogova@fncps.ru ORCID: <a href="https://orcid.org/0000-0002-2732-3059">https://orcid.org/0000-0002-2732-3059</a></p> <p><b>Elena V. Topnikova</b>, Doctor of Technical Sciences, Deputy Director for Research, All-Russian Scientific Research Institute of Butter- and Cheese-making 19, Krasnoarmeysky Boulevard, Uglich, 152613, Yaroslavl Region, Russia Tel.: +7-910-666-93-93 E-mail: e.topnikova@fncps.ru ORCID: <a href="https://orcid.org/0000-0003-0225-6870">https://orcid.org/0000-0003-0225-6870</a></p> <p><b>Ekaterina S. Danilova</b>, Researcher, Buttermaking Department, All-Russian Scientific Research Institute of Butter- and Cheese-making 19, Krasnoarmeysky Boulevard, Uglich, 152613, Yaroslavl Region, Russia Tel.: +7-960-527-61-48 E-mail: e.danilova@fncps.ru ORCID: <a href="https://orcid.org/0000-0001-5522-224X">https://orcid.org/0000-0001-5522-224X</a> * corresponding author</p>
<b>Критерии авторства</b>	<b>Contribution</b>
Авторы в равных долях имеют отношение к написанию рукописи и одинаково несут ответственность за плагиат.	Authors equally relevant to the writing of the manuscript, and equally responsible for plagiarism.
<b>Конфликт интересов</b>	<b>Conflict of interest</b>
Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.	The authors declare no conflict of interest.

DOI: <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2024-7-1-165-178>



Received 13.08.2023

Accepted for revised 15.09.2023

Accepted for publication 20.09.2023

© Mohsen S. M., Ashraf A., Ahmed S. S., Abdelmaksoud T. G., 2024

Available online at <https://www.fsjour.com/jour>

Original scientific article

Open access

## BISCUITS ENRICHED WITH THE EDIBLE POWDER OF ANGOUMOIS GRAIN MOTH (*SITOTROGA CEREALELLA*): OPTIMIZATION, CHARACTERIZATION AND CONSUMER PERCEPTION ASSESSMENT

Sobhy M. Mohsen<sup>1</sup>, Amal Ashraf<sup>1</sup>, Sayeda S. Ahmed<sup>2</sup>, Tarek G. Abdelmaksoud<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup> Food Science Department, Faculty of Agriculture, Cairo University, Giza, Egypt

<sup>2</sup> Department of Entomology and Pesticides, Faculty of Agriculture, Cairo University, Giza, Egypt

**KEY WORDS:**  
insects, flour,  
evaluation, protein

### ABSTRACT

During this study, the dried powder of Angoumois grain moth (*Sitotroga cerealella*) (AGM) was used as an excellent source of protein to produce nutritional biscuits. Physical, chemical, rheological and microbiological characteristics of biscuits with the optimum AGM percentage (5%) were evaluated compared to the control. The response surface methodology (RSM) with optimal (custom) design was first employed for optimizing the percentage of the AGM powder in biscuits. The optimum selected percentage of the AGM powder was 5% and a quadratic model was found to yield the best fit. The evaluation of parameters of biscuits (ash, protein, fiber and fat content) showed that most of the values, except carbohydrate, significantly increased with AGM inclusion (5%) compared to the control. Also, an increase in diameter, spread ratio and weight values and a decrease in the thickness and break strength of the biscuits were observed with AGM powder inclusion. The presence of the 5% AGM powder slightly increased water absorption, and dough development time also increased compared to the control sample. However, stability of dough decreased. The sanitary conditions of the AGM biscuits were satisfactory as the analytical results were within the established values specified in the regulation. The study revealed that Angoumois grain moth is an excellent source of nutrients necessary for combating protein-energy-malnutrition rampant in our world today.

ACKNOWLEDGEMENTS: The authors would like to thank the Food Science Department Faculty of Agriculture Cairo University for support this work.

Поступила 13.08.2023

Поступила после рецензирования 15.09.2023

Принята в печать 20.09.2023

© Мохсен С. М., Ашраф А., Ахмед С. С., Абедельмаксуд Т. Г., 2024

<https://www.fsjour.com/jour>

Научная статья

Open access

## ПЕЧЕНЬЕ, ОБОГАЩЕННОЕ ПИЩЕВЫМ ПОРОШКОМ АНГУМУАЗСКОЙ МОЛИ (*SITOTROGA CEREALELLA*): ОПТИМИЗАЦИЯ, ХАРАКТЕРИСТИКА И ОЦЕНКА ПОТРЕБИТЕЛЬСКОГО ВОСПРИЯТИЯ

Мохсен С. М.<sup>1</sup>, Ашраф А.<sup>1</sup>, Ахмед С. С.<sup>2</sup>, Абедельмаксуд Т. Г.<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup> Факультет науки о пище, Сельскохозяйственный факультет, Каирский университет, Гиза, Египет

<sup>2</sup> Кафедра энтомологии и пестицидов, Сельскохозяйственный факультет, Каирский университет, Гиза, Египет

**КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА:** АННОТАЦИЯ

домашние фильтры  
воды, фильтрованная  
вода, химическое  
и микробиологическое  
качество,  
безопасность воды

В данном исследовании использовали сухой порошок Ангумуазской моли (*Sitotroga cerealella*) (AGM) как превосходный источник белка для производства питательного печенья. Оценивали физические, химические, реологические и микробиологические характеристики печенья с оптимальным процентом AGM (5%) по сравнению с контролем. Сначала был применен метод поверхности отклика для оптимизации процента порошка AGM в печенье. Оптимальным выбранным процентом порошка AGM было 5%, и было установлено, что квадратичная модель дает наибольшее соответствие. Оценка показателей печенья (содержание золы, белка, клетчатки и жира) показала, что большинство значений, за исключением углеводов, существенно увеличилось при включении 5% AGM по сравнению с контролем. Кроме того, наблюдали увеличение диаметра, отношения диаметра к толщине и веса, и снижение толщины и разрывного усилия печенья при включении порошка AGM. Присутствие 5% порошка AGM несколько увеличивало абсорбцию воды, также увеличивалось время образования теста по сравнению с контрольным образцом. Однако стабильность теста снижалась. Санитарное состояние печенья с AGM было удовлетворительным, так как результаты исследования были в пределах установленных уровней, указанных в нормативных документах. Данное исследование продемонстрировало, что зерновая моль является превосходным источником нутриентов, необходимых для борьбы с неполноценным питанием и недостатком белка и энергии, распространенных в нашем мире в настоящее время.

БЛАГОДАРНОСТИ: Авторы выражают благодарность кафедре науки о пище, сельскохозяйственного факультета, Каирского университета за поддержку данной работы.

### 1. Introduction

Food security, quality and nutritional value are the world's most pressing concerns to meet an increase in population and shortage of food sources. Malnutrition has been a problem for most of consumers caused by insufficient diet. For centuries, wheat has been a central component of the typical diet of the country's inhabitants. Egypt is the most populous country in the Arab World, and the largest importer of wheat globally [1].

There is a big shortage of wheat, which is considered the main ingredient in bread and other bakery products. The present state of food security in Africa makes it pertinent to search for new alternatives for wheat that could enrich the basic diet. There are an increase in population worldwide and, consequently, an increasing demand for additional sources of proteins. Many studies were conducted using different plant protein sources like beans and soy to improve the quality of wheat flour

FOR CITATION: Mohsen, S. M., Ashraf, A., Ahmed, S. S., Abdelmaksoud, T. G. (2024). Biscuits enriched with the edible powder of Angoumois grain moth (*Sitotroga cerealella*): Optimization, characterization and consumer perception assessment. *Food Systems*, 7(1), 165-178. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2024-7-1-165-178>

ДЛЯ ЦИТИРОВАНИЯ: Мохсен, С. М., Ашраф, А., Ахмед, С. С., Абедельмаксуд, Т. Г. (2024). Печенье, обогащенное пищевым порошком Ангумуазской моли (*Sitotroga cerealella*): оптимизация, характеристика и оценка потребительского восприятия. *Пищевые системы*, 7(1), 165-178. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2024-7-1-165-178>

dough and bakery products. Also, due to the shortage in the traditional sources, different trials are focused on the non-traditional sources such as insects and algae [2].

Recently, the high nutritional value of edible insects has attracted the attention of researchers and the food industry for their potential use in foods. Edible insects contain around 35–61% proteins, 15–40% fats, and 3–10% minerals (e. g., iron, selenium, and zinc) and vitamins (mainly those of the B-group) [3]. Therefore, they can be used as good sources for these nutrients to improve health and avoid starvation. Edible insects are part of the diet for at least two billion people all over Asia, Africa, and South America. In Europe, Asia, and Africa, consumers' interest in insect-based foods is quickly increasing. Therefore, the new novel foods Regulation (Regulation 2015/2283) entered into force in January 2018 has given the green light for insect-based foods which safety has been assessed by the European Food Safety Authority (EFSA) upon the request of the European Commission and which have been authorized by the Commission for placing on the market within the Union to be legally sold in all EU member states [4].

Certain insect species such as *Hermetia illucens*, *Acheta domestica*, *Tenebrio molitor*, *Macrotermes nigeriensis*, *Macrotermes bellicosus*, *Brachytripes megacephalus*, *Ephestia cautella*, *Spodoptera littoralis*, *Agrotis ipsilon*, *Ephestia kuehniella* and *Schistocerca gregaria*, as well as *Syntermes solidiers*, can be targeted for being incorporated as a powder in food products providing additional nutrients.

There were several studies that used edible insects as a supplement in bakery products to increase the nutritional value and improve quality characteristics of the bakery products such as studies by Ogidi et al. [5] who added *Brachytripes membranaceus*, *Macrotermes nigeriensis* and *Rhynchophorus ferrugineus* in cookies, Pérez-Rodríguez et al. [6] who added *Tenebrio molitor* and *Sphenarium purpurascens* in bread and Kowalski et al. [7] who added *Tenebrio molitor* in sponge cakes.

De Oliveira et al. [8] made a conclusion about the safety of cinereous cockroach (*Nauphoeta cinerea*) in bread. In their study, the insect flour showed satisfactory sanitary conditions since the results of the microbiological analysis of the flour with cinereous cockroach were within the range of the established values specified in the regulation.

There is no reported data available on utilization of the Angoumois grain moth (AGM) powder in food. Therefore, the aim of this study was the use of Angoumois grain moth (*Sitotroga cerealella*) as a functional food supplement with the high protein concentration for different consumer categories, especially children. The percentage of the AGM powder was optimized; then, physical, chemical, rheological and microbiological properties were studied.

## 2. Materials and methods

### 2.1. Materials

Angoumois grain moth (*Sitotroga cerealella*) (AGM) was provided by the Agricultural Research Center, Department of Biological Control, Giza, Egypt. Other ingredients such as wheat flour, sugar, butter, baking powder, and eggs were purchased from the local market in Giza, Egypt. All chemicals, solvents, and reagents were provided by PioChem Company (Egypt).

### 2.2. Selection of insect variety

Different varieties of insects, i. e. Mediterranean flour moth (*Ephestia kuehniella*), almond moth (*Ephestia cautella*), Angoumois grain moth (AGM) (*Sitotroga cerealella*), cotton leafworm (*Spodoptera littoralis*) and palm weevil (*Rhynchophorus ferrugineus*) were evaluated for their productivity.

### 2.3. Rearing of Angoumois grain moth, *Sitotroga cerealella* (Olivier) (Lepidoptera: Gelechiidae)

The wheat grains were boiled, strained, spread over trays and left to dry. Then, the wire trays were filled with the dried wheat grains (6 kg/tray). The dried wheat grains in trays were infested with the grain moth eggs (1g egg moth/1kg wheat grains). The wire trays were placed in a horizontal position. After ten days, *S. cerealella* eggs hatched and the wire trays were placed vertically in the cages and maintained until emergence and falling of the moths in the plastic jars fitted under each cage. The plastic jars were replaced daily. After that, the collected moths were emptied into the wire cylinders (wire screen allows *Sitotroga* eggs to fall through and prevent the moths to escape).

### 2.4. Production of the AGM powder

AGMs were dried using an oven (Shel-lab, Cornelius, OR, USA) at different temperatures (from 50 °C to 160 °C) at different times (2hrs and 4hrs). The dried AGMs were ground by an analytical mill (Cole-Parmer, Vernon Hills, IL, USA), sieved up to 50 mesh and stored at -20 °C (Blocean,

Egyptian Electrical Appliances Co., Egypt) in brown laboratory bottles until further analysis.

### 2.5. Preparation of biscuits using the AGM powder

Five formulations of biscuits were made using the method of Oluwamukomi et al. [9] with some modifications as follow. The AGM powder was individually added to wheat flour, mixed and then water, sugar (22.5%), butter (40%), eggs (0.3%) and baking powder (2.8%) were added. The ingredients were mixed and the dough was continuously mixed until a smooth consistency was obtained. The dough was then kneaded, and rolled out thinly on a cutting board where it was cut out into uniform shapes and sizes. The cut dough was placed in a greased baking tray and transferred into the oven (Zanussi, Electrolux, Italy). The biscuits were baked at 180 °C for 20–30 minutes, cooled, and packed. The weight of each biscuit was determined (10–15g).

### 2.6. Optimization of the AGM powder percentage

The response surface methodology (RSM) was used to examine the effects of the AGM powder percent (independent variable) on the overall acceptability, texture, and color values (*L*, *a*, and *b*) (responses) of biscuits. An optimal (custom) design was used: AGM powder (0–15%) as shown in Table 3. Analysis of variance (ANOVA) found the significant terms in the model for the responses (overall acceptability, texture and color values (*L*, *a*, and *b*)) and model ANOVA statistics investigated the validation of the equation. Statistical calculations were made using the regression coefficients in order to generate a response surface plot from the model (Trial version of Design Expert Version 10.0.6 software).

The generalized second-order polynomial model was used in the response surface analysis, which is described by (Equation 1):

$$Y = a_0 + a_1x_1 + a_{11}x_1^2, \quad (1)$$

where

*Y* is the response variable;

*X*<sub>1</sub> (AGM powder%) is the independent variable.

Regression coefficients are:

*a*<sub>0</sub> is for intercept;

*a*<sub>1</sub> is for linear term;

*a*<sub>11</sub> is for quadratic term.

The experimental data were fitted to a second-order polynomial model (Equation 1) to obtain the regression coefficients. Using the *R*<sup>2</sup>, adjusted-*R*<sup>2</sup>, predicted-*R*<sup>2</sup> (should be over 0.90), and prediction error sum of squares (PRESS) values, the adequacy of the model was checked. Good model fitting is shown by a high predicted *R*<sup>2</sup> and a low PRESS [10]. The perturbation plot was also used to compare the effects of the factor at a particular point in the design space. Response surface and contour plots were then generated. The optimization of percentage of the AGM powder for overall acceptability maximization, assigned texture and color values (*L*, *a*, and *b*) in the range was done by using a desirability function. Desirability function *d*(*y*) ranges from 0 to 1 for each response (*y*), and depends totally on closeness to the lower and upper limits. The range of the desirability value is from 0 (which represents a totally undesirable value of *y*) to 1 (which represents an ideal or completely desirable value of *y*). Many desirability functions can be used depending on whether a certain response is to be maximized, decreased, or allocated to a target value [11].

In this study, the main objective of optimization is maximizing the overall acceptability and assigned color values (*L*, *a* and *b*) and texture to a target value to be in the range (response, *y*). Equations 2, 3 and 4 describe the desirability function as follows:

$$d(y) = 1, y \leq L \quad (2)$$

$$d(y) = \frac{(y-L)}{(U-L)}, L < y < U \quad (3)$$

$$d(y) = 0, y \geq U \quad (4)$$

where *L* and *U* are the response's lower and upper limits, respectively.

By the desirability function method, maximization of polynomials was carried out using a trial version of design expert version 10.0.6 software.

### 2.7. Consumer perception

Participants were given a link to the online questionnaire by email and social media, using the free online survey tool Google Form (WhatsApp and Facebook). A succinct explanation of the current study was provided, and participants were encouraged to contact us with any questions by email as well as by typing, calling from a cell phone, or speaking directly during the contact. The current study examines consumers' perception of biscuits, including AGM biscuits in general, and their desire to purchase such types of biscuits but does not represent a particular market segment or the total market population.



There were 261 respondents to the Google form questionnaire: 54.4% female and 45.6% male, the age range was 14 to 79. The educational level of the respondents was as follows: high school (19.9%), a college degree (32.6%), a master's degree (23.8%), and a doctoral degree (23.8%). The respondents were asked to rate how much they agreed or disagreed with the statement "Consumers consider biscuits (AGM biscuits) as a source of nutritional ingredients" as described by Torres et al. [12]. The survey was divided into three parts.

The first three questions in Part 1 focused on demographic information such as age, gender, and educational attainment. The remaining questions focused on the objective, which was to determine the level of consumer perception of biscuits in general and the AGM biscuits in particular. To recognize and understand what the AGM biscuit product is, an image of the product, a small voice and a call were introduced in this section [13]. The respondents were asked the following questions:

- Which type do you find most comfortable to eat during work or as a snack in between meals?
- This is Angoumois grain moth (AGM). Did you hear about it and its nutritional value before?
- How many servings of biscuits do you consume daily in total?
- Do you know functional food?
- Instead of using commercial food, would you buy functional food?
- Which consumer groups eat high-protein foods the most?
- If AGM biscuits is a new product, will you buy them provided that you know that they are an excellent source of protein, minerals, and phenolic compounds?
- What degree of your demands is met with AGM biscuits?
- Which aspects of our product would you modify, if anything?
- What do you think about the three-month shelf life of this product?
- When compared to other biscuit varieties you've tried, the nutritional value of our product is.....

Part 2: The stimulus dialogue was used in the completion task. Three stimuli were used as follows (Figure 1): The first stimulus – "Oh! The AGM biscuits is a brand-new type of biscuits, I love biscuits so much that I normally buy them as....."; the second stimulus – "I like them very much, but I won't buy them if....."; the third stimulus – "If....., I will buy them" [14].

The obtained data were analyzed as described by Torres et al. [12]. The triangulation method was employed to choose particular words or phrases that participants had submitted. Three knowledgeable researchers then assessed the responses and organized them into groups based on their individual interpretations. These groupings were joined to create the categories, which were then broken down into each category based on how frequently each group was referenced. The categories that accounted for more than 5% of the responses were the focus of the analysis. This was done in order to avoid the loss of a large amount of information [15].

### 2.8. Chemical evaluation

The chemical composition of the samples, i. e. moisture, ash, protein, fat, fiber, and carbohydrates, was determined according to AOAC [16].

The total phenolic content (TPC) of the AGM powder samples was determined using the Folin–Ciocalteu assay and expressed as mg Gallic acid equivalents (GAE) per gram of powder [10]. Phenolic compounds in the AGM powder samples were analyzed using HPLC following the protocol described by Elsayed et al. [17].

Fatty acids were identified using gas chromatography–mass spectrometry analysis (GC–MS). The GC–MS system (Agilent Technologies) was equipped with a gas chromatograph (7890B) and mass spectrometer detector (5977A) at Central Laboratories Network, National Research Centre, Cairo, Egypt.

The mineral content of the AGM powder samples was determined using inductively coupled plasma-atomic emission spectroscopy (ICP-OES: Icap6000 serious, Serial No. Icp-20080614, England). Each sample was measured twice to determine the macroelements, such as Ca and Mg as well as the microelements, such as Zn and Fe. The amino acid profile was determined by high-performance liquid chromatography (HPLC) (Agilent Technologies Inc., Santa Clara, CA, USA) at Central Laboratories Network, National Research Centre, Cairo, Egypt.

### 2.9. Physical evaluation

Thickness and diameter (using a vernier caliper) and weight (using a balance, KERN, Kern& Sohn, Germany) of the biscuits were determined [18]. The spread ratio of the biscuits was calculated by Equation 5.

$$\text{Spread ratio} = \text{Diameter/Thickness} \quad (5)$$

The break strength was determined according to Okpala and Egwu [19]. A biscuit of known thickness was placed between two parallel wooden bars, weights were added until the biscuit snapped. The least weight that caused the breaking of the biscuit was regarded as the break strength.

The biscuits' color parameters ( $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$ , and  $\Delta E$ ) were measured by a Minolta colorimeter (Model CR400, Konica Minolta, INC, Tokyo, Japan). The  $L^*$  value representing lightness, the  $a^*$  value representing redness (with + values) and greenness (with – values), the  $b^*$  value representing yellowness (with + values) and blueness (with – values), and  $\Delta E$  (total color differences) were measured using methods described by Abdelmaksoud et al. [10].

The hardness of biscuits was measured by using a three point test on a Universal testing machine (Cometech, B type, Taiwan). The compression strength of biscuits was measured at a 20% level of compression with a cross-head speed of 100 mm/min and a flat ended probe (2.5 mm thickness). All measurements were performed at an ambient temperature of 25 °C. The hardness was expressed in Newton (N).

### 2.10. Microbiological evaluation

The total viable count, mold and yeast counts and *Staphylococcus aureus* were determined according to the international standards ISO 4833–1:2013 [20], ISO 21527–1:2008 [21] and ISO 6888–1:2021 [22].

Detection of thermo-tolerant coliforms at 45 °C was performed according to the protocol described by Food and Drug Administration.2002/ updated 2017 [23]. The samples were also subjected to *Salmonella* analysis based on the international standard ISO 6579:2002/Cor.3:2014(E) [24].

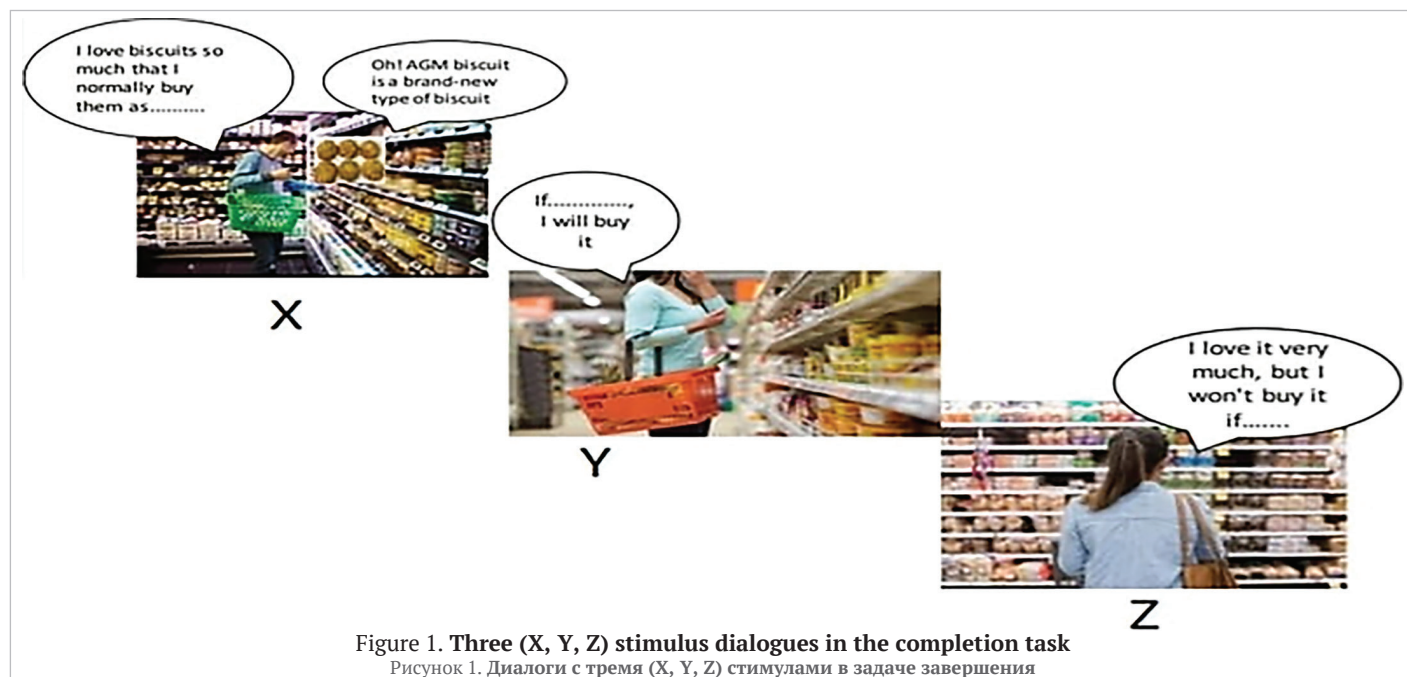


Figure 1. Three (X, Y, Z) stimulus dialogues in the completion task

Рисунок 1. Диалоги с тремя (X, Y, Z) стимулами в задаче завершения

### 2.11. Rheological characteristics

The mixing behavior of dough obtained from wheat flour as a control and with the 5% AGM powder was studied using Mixolab (Chopin, Tripette et al, Renaud, Paris, France). It measured in real-time the torque (expressed in Nm) produced by the passage of dough between the two kneading arms, hence allowing the study of its rheological behavior [25]. Parameters recorded from the Mixolab curve included: water absorption (the amount of water required to reach the consistency of 1.1 Nm expressed as milliliters per 100g of flour at 14.0% mass fraction moisture content), dough development time, and stability of the dough during mixing that indicated the elapsed time, at which dough kept the maximum consistency.

Rheological characteristics of all samples were determined by a Chopin MA 82 alveograph according to (ICC Standard 55 30–3) [26]. Each alveograph chart was analyzed for four factors: P – the maximum over pressure needed to blow the dough bubble (expresses dough elasticity), L – the average abscissa at bubble rupture (expresses dough elasticity), P/L – alveograph ratio, W – the baking strength and Le% – the flexibility index. The variables represent the average of five curves from five dough samples [27].

### 2.12. Statistical Analysis

Data were statistically analyzed using analysis of variance (ANOVA), and the means were compared by the Turkey test, with 95% statistical significance ( $\alpha$ ) and  $p < 0.05$ , using XL STAT 2014.5.03 software (Addinsoft, New York, USA).

## 3. Results and discussion

### 3.1. Selection of insect variety

Table 1 represents the quantity of powder produced for each insect variety i. e. *Ephestia kuehniella*, *Spodoptera littoralis*, *Rhynchophorus ferrugineus*, *Ephestia cautella*, and Angoumois grain moth (*Sitotroga cerealella*) (AGM) as follow.

Table 1. Yield of different insect varieties  
Таблица 1. Выход различных видов насекомых

Variety	Insect powder/ 100 eggs (g)
<i>Ephestia kuehniella</i>	10
<i>Spodoptera littoralis</i>	16
<i>Rhynchophorus ferrugineus</i>	5
<i>Ephestia cautella</i>	12
<i>Sitotroga cerealella</i> (AGM)	150

The above table shows that the selected insect was Angoumois grain moth (*Sitotroga cerealella*) (AGM) according to higher yield compared to other studied varieties. Therefore, the AGM powder was selected, evaluated and used with wheat flour in biscuit making at different ratios.

### 3.2. Evaluation of the AGM powder

The chemical composition (moisture, ash, protein, fat, fiber, carbohydrates and total phenolic content) was determined in the samples of the AGM powder and wheat flour as shown in Table 2. The results demonstrated that the AGM powder was rich in protein, fat, minerals, total phenolic content and fiber compared to wheat flour. The use of the AGM powder mixed with wheat flour will lead to an increase in the contents of these components. The protein content of the AGM powder (54.26%) was similar to that presented by de Oliveira et al. [8] for *Periplaneta americana* L (65.60%) and *Periplaneta australasiae* (62.40%) showing a high content of the component that was desired to elevate in the tested biscuits. The use of the AGM powder mixed with wheat flour increased the protein content by 2% at 5% AGM powder substitution, respectively (Table 2). The protein quality refers to its ability to meet the nutritional requirements of humans for essential amino acids and non-essential nitrogen for protein synthesis purposes. Considering the average contents of the different orders of insects, the main components of insects are protein and fat followed by fiber and ash.

In regard to the amino acid profile of the AGM powder (Figure 2A), it can be seen that those classified as essentials are present in large quantities. Among them, histidine (13.17 mg/g), threonine (16.18 mg/g), valine (15.56 mg/g), methionine (9.29 mg/g), phenylalanine (13.22 mg/g), leucine (31.55 mg/g) and isoleucine (14.93 mg/g) are worth mentioning, since they are of great importance due to their daily intake necessity for humans. It is known that wheat flour has a shortage of the essential amino acids such as lysine, histidine, leucine and valine.

Figure 2B shows the fatty acid profile of the AGM powder. Oleic acid ( $\omega 9$ ) with 45.16%, linoleic acid, the essential omega-6 fatty acid, with

12.01% and linolenic acid with 8.30% were present as unsaturated fat. The omega-9 ( $\omega 9$ ) fatty acid showed a good concentration in the AGM powder accounting for approximately 45.16% of total fatty acids compared with beef marbling, which typically contains 43% SFA, 50% MUFA, and 7% PUFA [28]. This high concentration is a positive factor, since the  $\omega 9$  fatty acids have a hypocholesterolemic effect [29].

Table 2. Chemical composition of wheat flour, AGM powder and 5% AGM powder substitution

Таблица 2. Химический состав пшеничной муки, порошка AGM и с 5% замены порошком AGM

Parameter	Wheat flour	AGM powder	5% AGM powder substitution
Moisture, %	9.87±0.08	19.89±0.13	10.36±0.01
Ash, %	0.63±0.09	2.77±0.07	0.73±0.05
Protein, %	13.70±0.11	54.26±0.15	15.72±0.04
Fat, %	2.66±0.10	6.88±0.10	2.87±0.02
Carbohydrates, %	72.6±0.05	15.68±0.10	69.75±0.08
Fiber, %	0.54±0.02	11.25±0.12	1.07±0.10
Total phenolic content (mg GAE/g of dry weight)	0.25±0.02	4.36±0.09	0.448±0.10

Data are presented as means ± standard deviation of triplicate determinations.

According to Hautrive et al. [30], the saturated fatty acid content in ostrich meat was 27.34%, similar to that of pork ham (28.02%) and beef rump (29%), while chicken (thigh and drumstick) was the one with the least percentage of 19.73%. When comparing these data with those found in the AGM powder, we found a low percentage of saturated fat, which reached less than half the value obtained for the chicken, and thus, the AGM powder showed the lowest percentage compared to other meats. This indicates that the addition of the AGM powder to biscuits can increase the percentage of unsaturated fats (beneficial) and reduce harmful ones (saturated fats). Saturated fat can contribute in the medium term and long term to the onset of obesity and cardiovascular disease; therefore, the low percentage in the AGM powder is a positive point. The saturated fatty acids increased the level of cholesterol in the blood by reducing the LDL-cholesterol receptor activity and the clearance of LDL in the bloodstream [31].

Figure 2C shows that iron, magnesium, zinc and calcium were present in different amounts in the AGM powder being 5373.58mg/L, 5718.97mg/L, 237.60 mg/L and 510.11mg/L for iron, Mg, Ca and Zn, respectively. This indicates that the AGM powder was rich in Ca, Mg, Fe and Zn. Akullo et al. [32] reported that the consumption of 25 g of crackers enriched with 5% winged termites contributed 19.10% and 34.58% of the recommended dietary intake (RDI) of iron and zinc in pre-school children. However, the consumption of 25 g of biscuits enriched with the 5% AGM powder contributes 100%, 100%, 89% and 0.4% of RDI of iron, zinc, magnesium and calcium in pre-school children.

The results in Figure 2D present the concentration and identification of phenolic compounds of the AGM powder. Vanillic acid (564.7 mg/kg), p-coumaric acid (39.79 mg/kg) and quinol (12.06 mg/kg) were the major phenolic compounds in the AGM powder extract. From a human physiological standpoint, phenolic compounds are vital in defense responses, such as anti-aging, anti-inflammatory, antioxidant and anti-proliferative activities. Vanillic acid is a very important compound because it exerts diverse bioactivity against cancer, diabetes, obesity, neurodegenerative, cardiovascular and hepatic diseases by inhibition of the associated molecular pathways [33].

Microbiological evaluation of the AGM powder showed that it had a satisfactory safety condition. The results of the microbial analysis did not exceed the established values specified in the regulation [34,35]. Additionally, with increasing the heat treatment temperature of the AGM powder up to 120 °C, the total plate count, mold and yeast count, *Staphylococcus aureus* and thermo-tolerant coliforms decreased and became to be within the acceptable limit. This indicates that the heat treatment of the AGM powder at 120 °C for 2 hours inhibited microorganisms and the AGM powder became safe according to the regulation [34,35] and Table S1.

### 3.2. Effect of the AGM powder percent on the overall acceptability, texture and color values (L, a, and b) of biscuits

The AGM powder percentage was chosen (Table 3) for RSM to evaluate the impact of an AGM powder percentage on overall acceptability, texture, and color values (L, a, and b) of biscuits. It was observed during a pretest experiment that AGM powder percentages greater than 15% resulted in dark color changes in the biscuits.

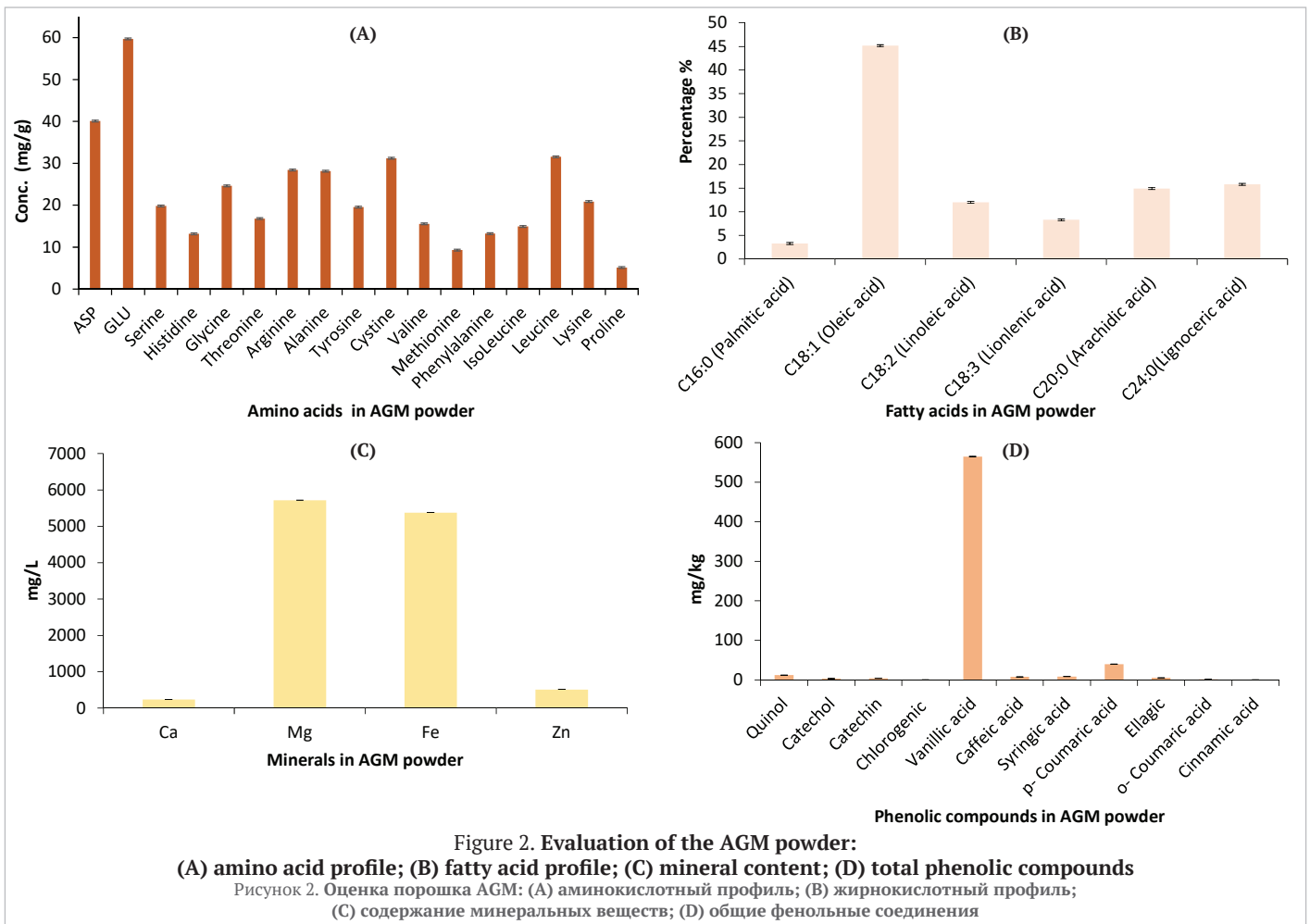


Figure 2. Evaluation of the AGM powder: (A) amino acid profile; (B) fatty acid profile; (C) mineral content; (D) total phenolic compounds  
 Рисунок 2. Оценка порошка AGM: (A) аминокислотный профиль; (B) жирнокислотный профиль; (C) содержание минеральных веществ; (D) общие фенольные соединения

Table 3. An optimal (custom) design with experimental values of responses (overall acceptability, texture and color values (L, a, and b) of biscuits)

Таблица 3. Оптимальный (индивидуальный) дизайн с экспериментальными уровнями откликов (общая приемлемость, текстура и уровни цвета (L, a, и b) печенья)

Run order	AGM powder % (X <sub>1</sub> )	Overall acceptability	L	A	b	Texture (N)
1	13.8	4.51	43.92	11.91	27.26	5.41
2	8.35	5.14	47.18	13.08	31.86	6.63
3	5	6	51.51	13.32	33.38	7.29
4	10	5.33	45.6	12.84	29.58	6.15
5	6.65	5.84	49.33	13.13	32.11	7.01
6	0	7.5	53.7	14.39	38.42	7.31
7	5	6.28	51.8	13.28	33.28	7.08
8	10	5.28	45.53	12.71	29.41	6.09
9	15	4.3	43.65	11.75	26.12	5.56
10	10	5.16	45.42	12.62	29.32	5.92
11	15	4.11	43.81	11.63	26.01	5.42
12	12.5	4.82	44.51	12.11	28.12	5.63
13	11.3	5.03	45.06	12.51	28.31	5.88

Table 3 represents the measured overall acceptability, texture and color values (L, a, and b) of biscuits. The second order polynomial equation (Equation 1) was used for optimization of the AGM powder percentage and multiple regression analysis determined the regression coefficients for independent variables. The effects of the AGM powder percent on the overall acceptability, texture, and color values (L, a, and b) of biscuits are shown in Tables S.2, S.3, S.4, S.5 and S.6 with a 95% confidence interval using ANOVA analysis.

The model displays an excellent fit with the measured overall acceptability, texture and color values (L, a, and b) of biscuits with a high level

of significance and less variance around the mean. The fitted model could explain 97.7% of the response variability according to R<sup>2</sup>= 0.9779 of the overall acceptability response. For L response, R<sup>2</sup> = 0.9987, which means that 99.8% of the response variability could be explained by the fitted model. For (a) response, R<sup>2</sup> = 0.9931, i. e., 99.3% of the response variability could be explained by the fitted model. For (b) response, R<sup>2</sup> = 0.9875, i. e., 98.7% of the response variability could be explained by the fitted model. Finally, for texture response, R<sup>2</sup> = 0.9751, i. e., 97.5% of the response variability could be explained by the fitted model. The adjusted R<sup>2</sup> values for the models of overall acceptability, color values (L, a and b), and texture responses were 0.9735, 0.9980, 0.9896, 0.9850, and 0.9627, respectively, and did not significantly differ from R<sup>2</sup> values. The lack-of-fit was not significant (p>0.05). Based on these results, the model was satisfactory for predicting the overall acceptability, texture and color values (L, a, and b) of biscuits in the experimental ranges.

The negative linear effect of the AGM powder percent (x<sub>1</sub>) was significant for the response variables (the overall acceptability, texture and color values (L, a, and b) of biscuits). The quadratic effect of the AGM powder percent (x<sub>1</sub><sup>2</sup>) on color values (L, a and b) of biscuits was also found to be significant (p<0.05). However, the quadratic effect of the AGM powder percent (x<sub>1</sub><sup>2</sup>) on overall acceptability and texture of biscuits was found to be insignificant (p>0.05). The non-significant variables were removed and the fitted second order polynomial equations (Equations 6, 7, 8, 9 and 10) are shown as follows:

$$\text{Overall acceptability} = +5.70 - 1.60x_1 + 0.1829x_1^2 \quad (6)$$

$$L = +48.15 - 9.60x_1 + 4.87x_1^2 + 4.60x_1^3 - 4.32x_1^4 \quad (7)$$

$$a = +13.12 - 0.7594x_1 - 1.02x_1^2 - 0.5895x_1^3 + 0.9460x_1^4 \quad (8)$$

$$b = +32.838 - 4.57x_1 + 1.72x_1^2 \quad (9)$$

$$\text{Texture} = +6.80 - 1.62x_1 + 1.55x_1^2 + 0.6939x_1^3 + 1.13x_1^4 \quad (10)$$

Where x<sub>1</sub>: AGM powder% is the coded value.

To determine the optimum percentage of the AGM powder, second order polynomial models were used for the responses (overall acceptability, color values (L, a, and b) and texture of biscuits). Perturbation plots of the response surface methodology (RSM) and the model equation demon-

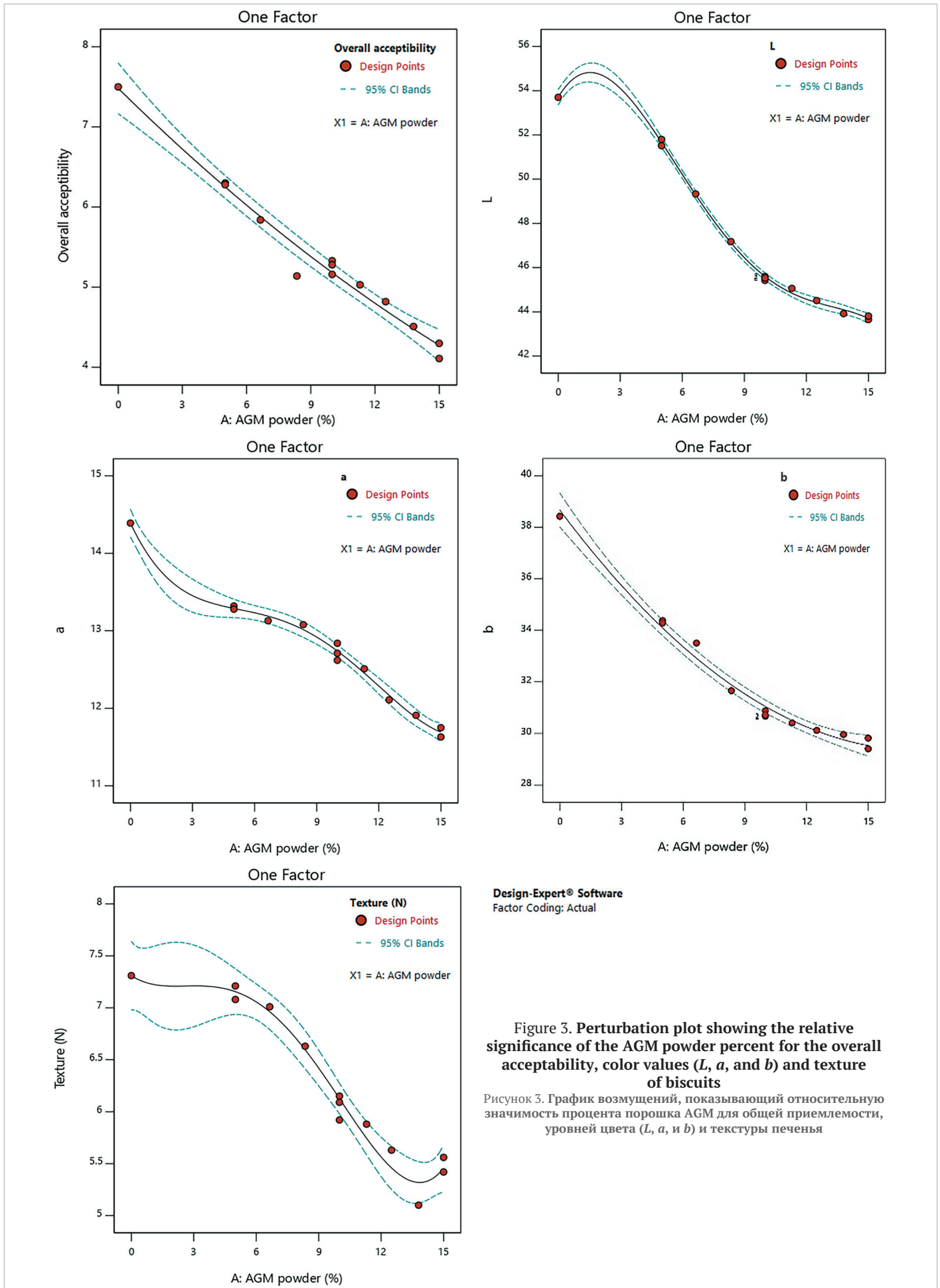


Figure 3. Perturbation plot showing the relative significance of the AGM powder percent for the overall acceptability, color values ( $L$ ,  $a$ , and  $b$ ) and texture of biscuits

Рисунок 3. График возмущений, показывающий относительную значимость процента порошка AGM для общей приемлемости, уровней цвета ( $L$ ,  $a$  и  $b$ ) и текстуры печенья

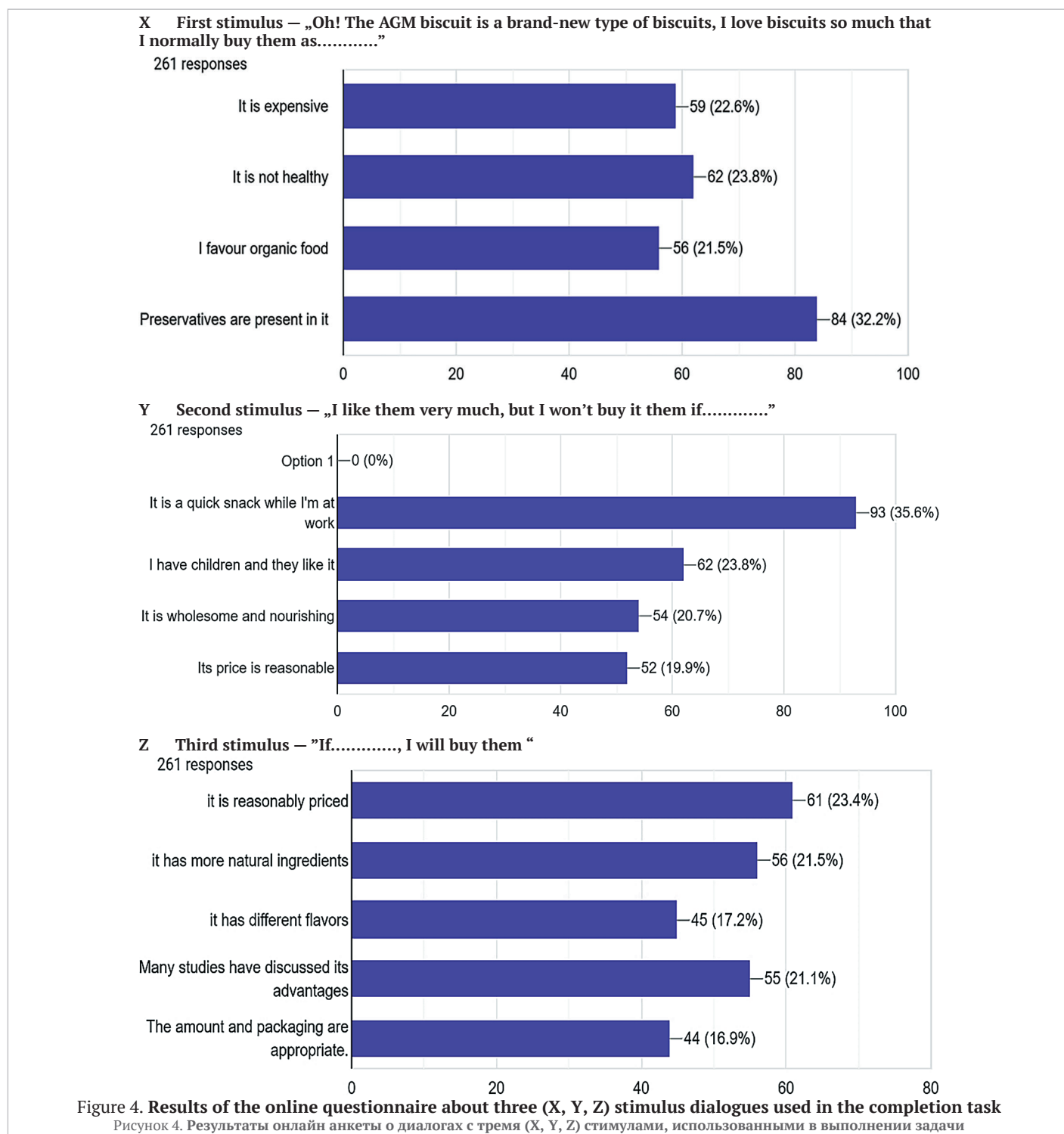
strate the significant influence of factor A (AGM powder%) on the overall acceptability, color values ( $L$ ,  $a$ , and  $b$ ), and texture of the biscuits. The effect of factor A (AGM powder%) is shown in Figure 3. The perturbation plot (Figure 3) shows the following hierarchy of the relative effect of the AGM powder percentage on the target responses: with increasing the percentage of the AGM powder, overall acceptability, color values ( $L$ ,  $a$ , and  $b$ ) and texture of biscuits decreased.

By using the desirability function, the ideal AGM powder percentage in biscuits was discovered at the highest levels of overall acceptability and target texture and color values ( $L$ ,  $a$ , and  $b$ ). The 5% AGM powder was selected as an optimum addition for maximization of overall acceptability and target color values ( $L$ ,  $a$ , and  $b$ ) and texture of biscuits, which gave the best (predicted) result for maximization of overall acceptability (6.16), target color values ( $L= 51.76$ ,  $a=13.33$  and  $b=34.43$ ) and texture (7.22N). The observed values of responses (overall acceptability, color values ( $L$ ,  $a$ , and  $b$ ) and texture of biscuits) were 6.28, 51.66, 13.28, 34.37 and 7.14, respectively.

### 3.4. Consumer perception of AGM biscuits

The most promising food category in the world right now appears to be functional foods. Markets in Egypt today sell a variety of functional food items, such as candies, milk products, juice, bars, biscuits, and cookies. Based on customer knowledge and expectations, this study sought to create a novel and healthful AGM biscuits. The questionnaire was split into two sections, and the results are shown in Figure S1 and Figure 4.

Figure S1 displays the questions and respondents' responses to them from Part 1 of the questionnaire. As can be seen from the figure, the most comfortable types of snacks for the respondents were bread items (43.3%), fruits (11.1%), vegetables (10.7%), crackers (8.8%), nuts (8.8%), and potato chips (7.3%). As for the knowledge of Angoumois grain moth (AGM) and its nutritional value, 35.6% of the respondents knew about them, 35.2% did not know, while 29.1% of respondents answered "maybe". About 7% of the respondents did not eat biscuits, 11.9% ate one serving of biscuits a day, 18.8% ate two servings a day, 22.6% ate three servings a day, and 39.8% ate ten servings a day. Answering the ques-



tion “Do you know functional food?”, 47.1% of the respondents selected “yes” and 52.9% selected “no”. The next question was “Instead of using commercial food, would you buy functional food?”. The responses to this question were “yes of course” (36.2%), “absolutely, but only if the cost is reasonable” (35.4%) and “no, I am not interested” (28.5%). The responses to the question “Which consumer groups eat high-protein foods the most?” were “all consumer groups” (36%), “people having mental disability” (19.9%), “children” (16.5%), “old people” (15.3%), and “young people” (12.3%). As regards the question “If AGM biscuits is a new product, will you buy them provided that you know that they are an excellent source of protein, minerals, and phenolic compounds?”, 44% of the respondents answered “yes”, 19.6% “maybe”, and 36.4% “never”. The high percent (37.2%) of the respondents answered that AGM biscuits met the consumer demands very well, followed by those who answered “fine” (32.2%), “well” (24.9%) and “badly” (5.7%). About 40% of the respondents would not modify any aspect of our product, 21.1% would use various colors to attract children, 18.4% would change the flavor, 14.6% would add other components like fruits or nuts, and 5.3% would change price. Among the respondents, 47.1% believed that the shelf life of this product was very good, 24.5% thought that it was fine, 22.6% thought that it was good, and 5.8% answered that the shelf life was not good. Approximately 50% of the respondents concluded that the nutritional value of our product was better than that of other biscuit varieties they tried, 40.6% answered that it was the same, while 9.2% thought that it was worse. Figure 4 shows the percent of responses for three (X, Y, Z) stimulus dialogues used in the completion task.

The information concerning consumer opinions and knowledge of AGM biscuits that was acquired through the online survey was crucial. Regarding the purchase intention (Figure S1), the samples of biscuits with the Angoumois grain moth (AGM) powder received a positive attitude toward purchase, with 44% of the judges stating that they would “of course, buy” and 19.6% “possibly buy”, totaling a 63.6% positive response. Since biscuits enriched with the AGM powder is an unknown product for consumers, being new with respect to the culture of the judges, purchase intention of 63.6% is considered a good result.

### 3.5. Evaluation of the wheat flour-AGM powder mixture

The chemical composition (moisture, ash, protein, fat, fiber, carbohydrates and total phenolic content) of the AGM powder, wheat flour and 5% AGM powder substitution was evaluated as shown in Table 1. The results demonstrated that the addition of the AGM powder at 5% to wheat flour in the processing of biscuits caused an increase in protein, fat, ash, fiber and total phenolic content by 2%, 0.2%, 0.1%, 0.53% and 0.2%, respectively. However, total carbohydrates reduced from 72.6% in wheat flour to 69.75% (Table 1).

### 3.6. Evaluation of biscuit quality (physical, chemical and microbial properties of biscuits)

The results of the chemical composition of different processed biscuits are shown in Table 4. Biscuits made from the 5% AGM powder and wheat flour were chemically analyzed for moisture, ash, protein, fat, fiber and carbohydrates (Table 4). The results demonstrated that the addition of the AGM powder to wheat flour affected the chemical composition of the baked biscuits and caused an increase in the protein, fat, ash and fiber content of the biscuits with the 5% AGM powder by 1.39%, 3%, 0.4% and 0.58% compared to the control. This indicates that the addition of the AGM powder increased the nutritional value of the baked biscuits compared to the control.

The physical properties of different processed biscuits are shown in Table 4. Physical characteristics of the biscuits made from wheat flour changed with the incorporation of the AGM powder. In general, an increase in weight, diameter and spread ratio values with the inclusion of AGM flour and a decrease in both height and breaking strength were recorded. This was in agreement with the study by Baljeet et al. [36] where buckwheat flour was added to wheat flour for biscuit making.

The spread ratio of biscuits, which is the ratio between the diameter and the thickness, increased in a range from 8.56 to 9.05 compared with the control (having the lowest value). The spread ratio increased with 5% AGM powder substitution. The spread ratio is the most important parameter to assess the quality of biscuits as the high values of spread ratio were considered the best according to Awobusuyi et al. [37] who reported that the incorporation of termite flour in wheat flour reduced gluten content and hence, reduced the elasticity of the pasta as well as the thickness of biscuits which might be responsible for an increase in the spread ratio with an increase in the level of substitution of termite flour.

The AGM powder had a high and positive effect on the spread ratio since its inclusion enhanced the spread ability of the biscuit samples. The results also showed that the breaking strength of biscuits contain-

ing the AGM powder decreased from 283 g to 277 g for the control and 5% AGM, respectively. There is also a relationship between the spread ability, height (thickness) and the breaking strength. The thinner a biscuit, the lesser its ability to withstand stress/load. The inclusion of the AGM powder in the biscuits produced affected the ability of the biscuits to withstand stress. The use of composite flour for biscuit making in order to reduce the breaking strength had been reported by Amjid et al. [38].

**Table 4. Physical, chemical and microbial properties of the biscuit samples**

Таблица 4. Физические, химические и микробиологические свойства образцов печенья

Sample	Control	5% AGM
Moisture, %	3.13±0.06	1.6±0.10
Ash, %	1.47±0.05	1.7±0.14
Protein, %	4.99±0.10	5.69±0.13
Fat, %	30±0.11	31.27±0.12
Fiber, %	0.84±0.06	1.24±0.07
Carbohydrates, %	59.6±0.11	59.37±0.10
Weight (g)	12.58±0.02	13.40±0.02
Diameter (cm)	5.39±0.01	5.42±0.02
Height (cm)	0.63±0.01	0.60±0.02
Spread Ratio	8.56±0.02	9.05±0.03
Breaking Strength (g)	283±0.05	277±0.08
<i>L</i>	66.69±0.02	51.50±1.08
<i>A</i>	10.33±0.10	13.32±0.11
<i>B</i>	38.84±0.11	33.38±0.18
<i>C</i>	40.19±0.08	35.94±0.06
<i>H</i>	75.10±0.11	68.34±0.08
$\Delta E$	0	16.42
Hardness (N)	7.54±0.06	7.29±0.08
Total viable count (log CFU/g)	2.4	2.5
<i>M</i> and <i>Y</i> count (log CFU/g)	Absence	Absence
Thermo-tolerant coliforms (log CFU/g)	Absence	Absence
<i>Salmonella</i> spp.	Absence	Absence

Estimated value. CFU: colony-forming units, *M* is Mold and *Y* is Yeast

The color parameters and hardness of different processed biscuits are shown in Table 4. The whole wheat biscuits had no significant difference from the biscuits with the 5% AGM powder. The results agree with the findings of de Oliveira et al. [8] who reported that with increasing concentrations of cinereous cockroach (*Nauphoeta cinerea*) flour meal, the hue ( $h_{ab}$ ) angle in the crumb and crust of bread decreased, while a distance to the desired value (close to 90°) increased. With the addition of the AGM powder to the whole wheat flour biscuits, the change in color of the biscuits ( $\Delta E$ ) increased. The biscuits with the addition of the AGM powder became darker than the control because of the color of the AGM powder. The values of hardness found for standard biscuits and for biscuits enriched with the 5% AGM powder did not present a significant difference.

Regarding the microbiological evaluation of biscuits, Table 4 demonstrates that the samples i. e., the wheat flour biscuits and biscuits made from wheat flour with the AGM powder, showed low microbial load and the absence of pathogenic microorganisms. The results were within the range of the established values as specified in the regulation [34,35].

### Dough rheological properties

The rheological properties of dough made from wheat flour and wheat flour with the 5% AGM powder were evaluated by using the mixolab and alveograph. Figure 5 illustrates the plots recorded during mixing in the mixolab. It can be noticed that addition of the AGM powder to wheat flour affected the rheological characteristics, i. e. water absorption, dough development time and stability of dough. The presence of the 5% AGM powder slightly increased water absorption compared to the control sample (wheat flour). Generally, the addition of flours with a high amount of hydrophilic proteins increased the hydration and water absorption of dough [39]. Dough development time increased with adding the 5% AGM powder compared to the control sample. However, stability of dough decreased. A decrease in stability might be attributed to a decrease in the percentage of wheat flour proteins (gliadin and glutenin) responsible for the formation of the gluten network [40].

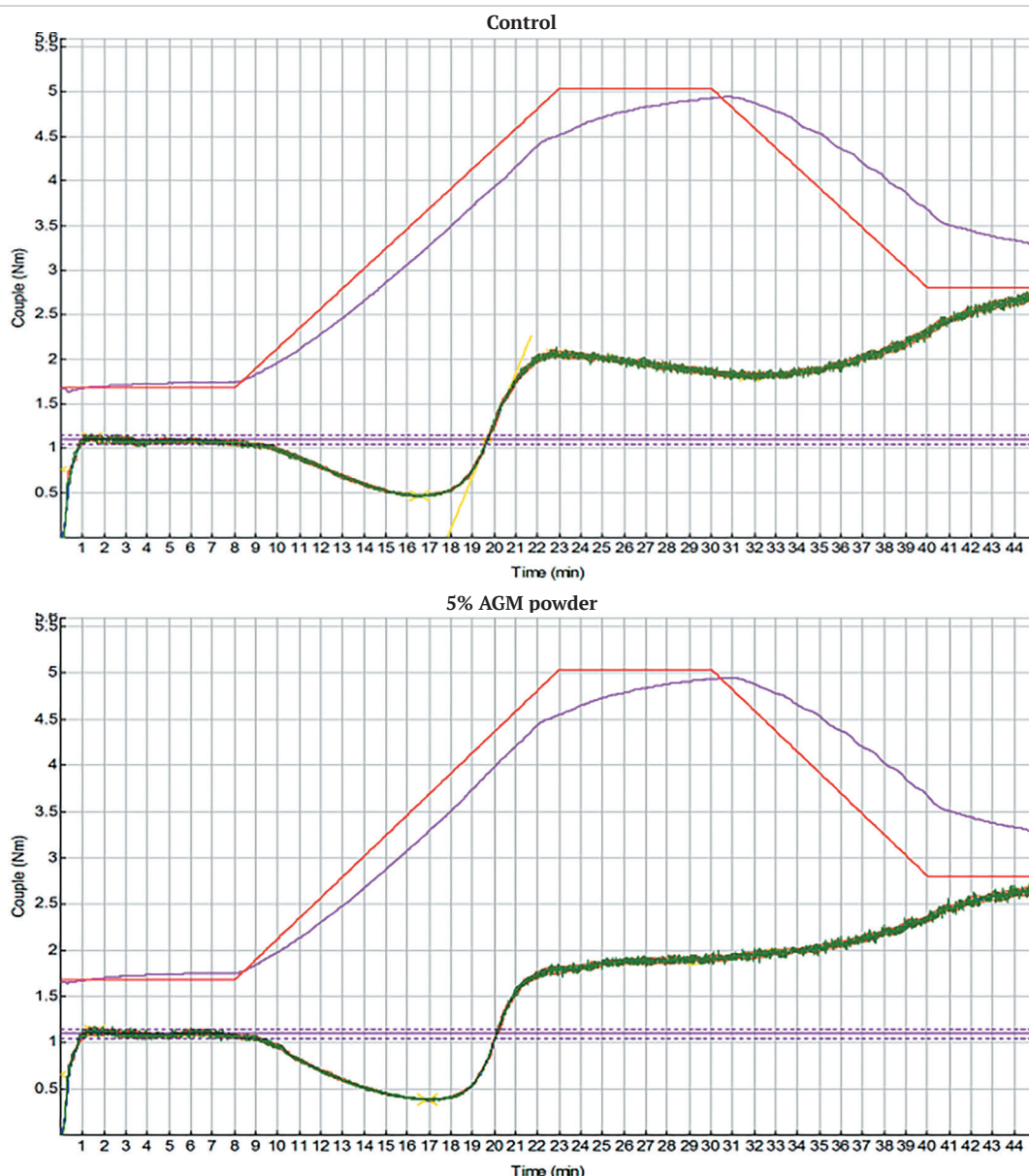


Figure 5. Mixolab curves of the control and the 5% AGM powder  
 Рисунок 5. Кривые Mixolab контрольных образцов и с 5% порошка AGM

The results obtained from alveographic measurements of dough are presented in Table 5. Dough prepared from the AGM powder at 5% did not demonstrate optimal viscoelastic behavior as shown by the higher ratio P/L. The presence of the 5% AGM powder increased the P value (dough elasticity) and P/L (Alveograph ratio) compared to the control sample, while L (dough elasticity), W ( $10^{-4}$  J) (baking strength) and flexibility index Le% decreased. This means that the addition of the AGM powder decreased the strength of the dough. This could be attributed to the reduction of wheat flour proteins (gliadin and glutenin).

Table 5. Alveographic measurement of dough  
 Таблица 5. Альвеографическое испытание теста

Parameter	Control	5%
P (mm)	95	83
L (mm)	117	77
P/L	0.81	1.08
W ( $10^{-4}$ J)	350	203
Le %	56.6	46.9

#### 4. Conclusion

Chemical and physical characteristics of the wheat-AGM biscuits observed in this study prove that Angoumois grain moth (*Sitotroga cerealella*) have the potential to contribute to the nutritional and physical quality of the biscuits. It can be used as a partial substitute for wheat in biscuit production without affecting the quality of biscuits made from it. The biscuits produced from wheat flour-AGM powder in this study generally had higher content of protein, fat, ash, fiber and total phenols and improved physical properties. Based on RSM, the optimum selected percentage of the AGM powder in biscuits was 5%. Therefore, this study confirmed the possibility of Angoumois grain moth inclusion in carbohydrate-rich foods to obtain products of acceptable quality. This study has revealed that Angoumois grain moth is an excellent source of nutrients and can be used as a supplement in biscuit production since it enhanced crude fiber and protein that are necessary for combating malnutrition rampant in our world today.

## REFERENCES

- Erenstein, O., Jaleta, M., Mottaleb, K. A., Sonder, K., Donovan, J., Braun, H. J. (2022). Global trends in wheat production, consumption and trade. Chapter in a book: *Wheat improvement: Food security in a changing climate*. Springer, Chan, 2022. [https://doi.org/10.1007/978-3-030-90673-3\\_4](https://doi.org/10.1007/978-3-030-90673-3_4)
- Altmann, B. A., Anders, S., Risius, A., Mörllein, D. (2022). Information effects on consumer preferences for alternative animal feedstuffs. *Food Policy*, 106(10), Article 102192. <https://doi.org/10.1016/j.foodpol.2021.102192>
- Imathiu, S. (2020). Benefits and food safety concerns associated with consumption of edible insects. *NFS Journal*, 18, 1–11. <https://doi.org/10.1016/j.nfs.2019.11.002>
- Regulation (EU) 2015/2283 of the European Parliament and of the Council of 25 November 2015 on novel foods. Retrieved from <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/TXT/PDF/?uri=CELEX:32015R2283> Accessed August 05, 2023.
- Ogidi, C.O., Ogunlade, A.O., Bodunde, R.S., Aladejana, O.M. (2023). Evaluation of nutrient contents and antioxidant activity of wheat cookies fortified with mushroom (*Termitomyces robustus*) and edible insects. *Journal of Culinary Science and Technology*, Article 2181253. <https://doi.org/10.1080/15428052.2023.2181253>
- Pérez-Rodríguez, E., Ibarra-Herrera, C.C., Pérez-Carrillo, E. (2023). Effect of incorporation of solid-state fermented edible insects *Tenebrio molitor* and *Sphearnariumpurpurascens* with *Aspergillusoryzae* in the elaboration of bread. *LWT*, 184(6), Article 115003. <http://doi.org/10.1016/j.lwt.2023.115003>
- Kowalski, S., Mikulec, A., Skotnicka, M., Mickowska, B., Makarewicz, M., Sabat, R. et al. (2022). Effect of the addition of edible insect flour from yellow mealworm (*Tenebrio molitor*) on the sensory acceptance, and the physicochemical and textural properties of sponge cake. *Polish Journal of Food and Nutrition Sciences*, 72(4), 393–405. <https://doi.org/10.31883/pjfn/155405>
- de Oliveira, L. M., da Silva Lucas, A. J., Cadaval, C. L., Mellado, M. S. (2017). Bread enriched with flour from cinereous cockroach (*Nauphoeta cinerea*). *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 44, 30–35. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2017.08.015>
- Oluwamukomi, M. O., Oluwalana, I. B., Akinbowale, O. F. (2011). Physicochemical and sensory properties of wheat-cassava composite biscuit enriched with soy flour. *African Journal of Food Science*, 5(2), 50–56.
- Abdelmaksoud, T. G., Mohsen, S. M., Duedahl-Olesen, L., Elnikeety, M. M., Feyissa, A. H. (2018). Optimization of ohmic heating parameters for polyphenoloxidase inactivation in not-from-concentrate elstar apple juice using RSM. *Journal of Food Science and Technology*, 55(7), 2420–2428. <https://doi.org/10.1007/s13197-018-3159-1>
- Derringer, G., Suich, R. (1980). Simultaneous optimization of several response variables. *Journal of Quality Technology*, 12(4), 214–219. <https://doi.org/10.1080/00224065.1980.11980968>
- Torres, F. R., da Silva, H. L. A., Cutrim, C. S., Cortez, M. A. S. (2020). Consumer perception of Petit-Suisse cheese: Identifying market opportunities for the Brazilian dairy industry. *Food Science and Technology*, 40(47), 653–660. <http://doi.org/10.1590/fst.38319>
- Nguyen, Q. C., Castura, J. C., Le Nguyen, D. D., Varela, P. (2023). Identifying temporal sensory drivers of liking of biscuit supplemented with brewer's spent grain for young consumers. *Food Research International*, 170, Article 113049. <http://doi.org/10.1016/j.foodres.2023.113049>
- Heenan, S. P., Hamid, N., Dufour, J. P., Harvey, W., Delahunty, C. M. (2009). Consumer freshness perceptions of breads, biscuits and cakes. *Food Quality and Preference*, 20(5), 380–390. <http://doi.org/10.1016/j.foodqual.2009.02.008>
- Guerrero, L., Claret, A., Verbeke, W., Enderli, G., Zakowska-Biemans, S., Vanhonacker, F. et al. (2010). Perception of traditional food products in six European regions using free word association. *Food Quality and Preference*, 21(2), 225–233. <https://doi.org/10.1016/j.foodqual.2009.06.005>
- AOAC. (2016). Association of Official Analytical Chemists. Official methods of analysis. Retrieved from <https://www.aoac.org/official-methods-of-analysis/> Accessed August 05, 2023.
- Elsayed, N., El-Din, H. S., Altemimi, A. B., Ahmed, H. Y., Pratap-Singh, A., Abdelmaksoud, T. G. (2021). In vitro antimicrobial, antioxidant and anticancer activities of Egyptian citrus beebread. *Molecules*, 26(9), Article 2433. <https://doi.org/10.3390/molecules26092433>
- Korese, J. K., Chikpah, S. K., Hensel, O., Pawelzik, E., Sturm, B. (2021). Effect of orange-fleshed sweet potato flour particle size and degree of wheat flour substitution on physical, nutritional, textural and sensory properties of cookies. *European Food Research and Technology*, 247(4), 889–905. <https://doi.org/10.1007/s00217-020-03672-z>
- Okpala, L. C., Egwu, P. N. (2015). Utilisation of broken rice and cocoyam flour blends in the production of biscuits. *Nigerian Food Journal*, 33(1), 8–11. <https://doi.org/10.1016/j.nifoj.2015.04.010>
- ISO 4833–1:2013. Microbiology of the food chain, Horizontal method for the enumeration of microorganisms, Part 1: Colony count at 30 °C by the pour plate technique. Retrieved from <https://www.iso.org/standard/53728.html> Accessed August 10, 2023.
- ISO 21527–1:2008. Microbiology of food and animal feeding stuffs, Horizontal method for the enumeration of yeasts and moulds, Part 1: Colony count technique in products with water activity greater than 0,95 Retrieved from <https://www.iso.org/standard/38275.html> Accessed August 10, 2023.
- ISO 6888–1:2021. Microbiology of the food chain, Horizontal method for the enumeration of coagulase-positive staphylococci (*Staphylococcus aureus* and other species), Part 1: Method using Baird-Parker agar medium Retrieved from <https://www.iso.org/standard/76672.html> Accessed August 10, 2023.
- Hammad, A. M., Eltahan, A., Hassan, H. A., Abbas, N. H., Hussien, H., Shimamoto, T. (2022). Loads of coliforms and fecal coliforms and characterization of thermotolerant *Escherichia coli* in fresh raw milk cheese. *Foods*, 11(3), Article 332. <https://doi.org/10.3390/foods11030332>
- ISO/TR6579–3:2014. Microbiology of the food chain, Horizontal method for the detection, enumeration and serotyping of *Salmonella*, Part 3: Guidelines for serotyping of *Salmonella* spp. Retrieved from <https://www.iso.org/standard/56714.html> Accessed August 10, 2023.
- Koksel, H., Kahraman, K., Sanal, T., Ozay, D. S., Dubat, A. (2009). Potential utilization of Mixolab for quality evaluation of bread wheat genotypes. *Cereal Chemistry*, 86(5), 522–526. <http://doi.org/10.1094/CHEM-86-5-0522>
- Apostol, L., Popa, M., Mustatea, G. (2015). Cannabis sativa L partially skimmed flour as source of bio-compounds in the bakery industry. *Romanian Biotechnological Letters*, 20(5), 10835–10844.
- Tlay, R. H., Abdul-Abbas, S. J., El-Maksoud, A. A. A., Altemimi, A. B., Abdelmaksoud, T. G. (2023). Functional biscuits enriched with potato peel powder: Physical, chemical, rheological, and antioxidants properties. *Food Systems*, 6(1), 53–63. <https://doi.org/10.21325/2618-9771-2023-6-1-53-63>
- Dinh, T.T.N., To, K.V., Schilling, M.W. (2021). Fatty acid composition of meat animals as flavor precursors. *Meat and Muscle Biology*, 5(1), Article 34. <https://doi.org/10.22175/mmb.12251>
- Attia, Y. A., Al-Harathi, M. A., Korish, M. A., Shiboob, M. M. (2015). Fatty acid and cholesterol profiles and hypocholesterolemic, atherogenic, and thrombogenic indices of table eggs in the retail market. *Lipids in Health and Disease*, 14, Article 136. <https://doi.org/10.1186/s12944-015-0133-z>
- Hautrive, T. P., Marques, A. C., Kubota, E. H. (2012). Determination of the composition, cholesterol and fatty acid profile of cuts of meat trade ostrich, swine, beef and poultry/Avaliacao da composicao centesimal, colesterol e perfil de acidos graxos de cortes carnosos comerciais de avestruz, suino, bovino e frango. *Brazilian Journal of Food and Nutrition*, 23(2), 327–335. (In Portuguese)
- Siri-Tarino, P. W., Sun, Q., Hu, F. B., Krauss, R. M. (2010). Saturated fatty acids and risk of coronary heart disease: Modulation by replacement nutrients. *Current Atherosclerosis Reports*, 12, 384–390. <https://doi.org/10.1007/s11883-010-0131-6>
- Akullo, J., Nakimbugwe, D., Obaa, B. B., Okwee-Acai, J., Agea, J. G. (2018). Development and quality evaluation of crackers enriched with edible insects. *International Food Research Journal*, 25(4), 1592–1599.
- Kaur, J., Gulati, M., Singh, S.K., Kuppasamy, G., Kapoor, B., Mishra, V. et al. (2022). Discovering multifaceted role of vanillic acid beyond flavours: Nutra-ceutical and therapeutic potential. *Trends in Food Science and Technology*, 122, 187–200. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2022.02.023>
- ES2378/2015. Wheat flour used in biscuit and pastry industry. Egyptian Organization for Standardization and Quality. Retrieved from <https://eos.org/en/standard/2520> Accessed August 07, 2023. (In Arabic)
- FAO/WHO Codex Alimentarius Commission. (September 24–28, 1984). Report of the fourth Session of the Codex Committee on Cereals, Pulses and Legumes, Washington, DC, 1984. Retrieved from [https://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/sh-proxy/en/?lnk=1&url=https%253A%252F%252Fworkspace.fao.org%252Fsites%252Fcodex%252Fmeetings%252FCX-712-20%252Ffal85\\_13Ae.pdf](https://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/sh-proxy/en/?lnk=1&url=https%253A%252F%252Fworkspace.fao.org%252Fsites%252Fcodex%252Fmeetings%252FCX-712-20%252Ffal85_13Ae.pdf) Accessed August 07, 2023.
- Baljeet, S. Y., Ritika, B. Y., Roshan, L. Y. (2010). Studies on functional properties and incorporation of buckwheat flour for biscuit making. *International Food Research Journal*, 17(4), 1067–1076.
- Awobusuyi, T. D., Siwela, M., Pillay, K. (2020). Sorghum–insect composites for healthier cookies: nutritional, functional, and technological evaluation. *Foods*, 9(10), Article 1427. <https://doi.org/10.3390/foods9101427>
- Amjid, M. R., Shehzad, A., Hussain, S., Shabbir, M. A., Khan, M. R., Shoaib, M. (2013). A comprehensive review on wheat flour dough rheology. *Pakistan Journal of Food Sciences*, 23(2), 105–123.
- Lazo-Vélez, M. A., Chuck-Hernandez, C., Serna-Saldívar, S. O. (2015). Evaluation of the functionality of five different soybean proteins in yeast-leavened pan breads. *Journal of Cereal Science*, 64, 63–69. <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2015.04.007>
- Barak, S., Mudgil, D., Khatkar, B. S. (2013). Relationship of gliadin and glutenin proteins with dough rheology, flour pasting and bread making performance of wheat varieties. *LWT-Food Science and Technology*, 51(1), 211–217. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2012.09.011>



AUTHOR INFORMATION	СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ
Affiliation	Принадлежность к организации
<p><b>Sobhy M. Mohsen</b>, Professor, Department of Food Science, Faculty of Agriculture, Cairo University 1 Gamaa Street, 12613, Giza, Egypt Tel.: +2-0122-310-13-17 E mail: sobmohsen1@hotmail.com ORCID: <a href="https://orcid.org/0000-0002-2374-3929">https://orcid.org/0000-0002-2374-3929</a></p> <p><b>Amal Ashraf</b>, Teaching Assistant, Department of Food Science, Faculty of Agriculture, Cairo University 1 Gamaa Street, 12613, Giza, Egypt Tel.: +2-0112-278-71-42 E mail: amal.zayed@agr.cu.edu.eg</p> <p><b>Sayed S. Ahmed</b>, Professor, Department of Entomology and Pesticides, Faculty of Agriculture, Cairo University 1 Gamaa Street, 12613, Giza, Egypt Tel.: +2-0100-922-36-83 E mail: Sayeda01@agr.cu.edu.eg ORCID: <a href="https://orcid.org/0000-0002-4875-400X">https://orcid.org/0000-0002-4875-400X</a></p> <p><b>Tarek G. Abdelmaksoud</b>, Associate Professor, Department of Food Science, Faculty of Agriculture, Cairo University 1 Gamaa Street, 12613, Giza, Egypt Tel.: +2-0110-144-12-80 E mail: tareekgamal_88@agr.cu.edu.eg ORCID: <a href="https://orcid.org/0000-0002-7012-6667">https://orcid.org/0000-0002-7012-6667</a> * corresponding author</p>	<p><b>Мохсен С. М.</b> — профессор, Кафедра науки о питании, Сельскохозяйственный факультет, Каирский Университет 12613, Египет, Гиза, ул. Гамаа, 1 Тел.: +2-0122-310-13-17 E mail: sobmohsen1@hotmail.com ORCID: <a href="https://orcid.org/0000-0002-2374-3929">https://orcid.org/0000-0002-2374-3929</a></p> <p><b>Ашраф А.</b> — ассистент, Кафедра науки о питании, Сельскохозяйственный факультет, Каирский Университет 12613, Египет, Гиза, ул. Гамаа, 1 Тел.: +2-0112-278-71-42 E mail: amal.zayed@agr.cu.edu.eg</p> <p><b>Ахмед С. С.</b> — профессор, Кафедра энтомологии и пестицидов, Сельскохозяйственный факультет, Каирский Университет 12613, Египет, Гиза, ул. Гамаа, 1 Тел.: +2-0100-922-36-83 E mail: Sayeda01@agr.cu.edu.eg ORCID: <a href="https://orcid.org/0000-0002-4875-400X">https://orcid.org/0000-0002-4875-400X</a></p> <p><b>Абедельмаксуд Т. Г.</b> — адъюнкт-профессор, Кафедра науки о питании, Сельскохозяйственный факультет, Каирский Университет 12613, Египет, Гиза, ул. Гамаа, 1 Тел.: +2-0110-144-12-80 E mail: tareekgamal_88@agr.cu.edu.eg ORCID: <a href="https://orcid.org/0000-0002-7012-6667">https://orcid.org/0000-0002-7012-6667</a> * автор для контактов</p>
<b>Contribution</b>	<b>Критерии авторства</b>
Authors equally relevant to the writing of the manuscript, and equally responsible for plagiarism.	Авторы в равных долях имеют отношение к написанию рукописи и одинаково несут ответственность за плагиат.
<b>Conflict of interest</b>	<b>Конфликт интересов</b>
The authors declare no conflict of interest.	Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

## SUPPLEMENTARY DATA

Table S1. Microbiological evaluation of the AGM powder (*Sitotroga cerealella*)

Таблица S1. Микробиологическая оценка порошка AGM (*Sitotroga cerealella*)

Samples	Total viable count (log CFU/g)	Mold and yeast count (log CFU/g)	<i>Staphylococcus aureus</i> (log CFU/g)	Thermo-tolerant coliforms at 45 °C (log CFU/g)	<i>Salmonella</i>
Control	10.9	4.3	3.8	5.1	Absence
Heat treated AGM powder at 50 °C					
1 hr	8.5	4.3	3.8	5.8	Absence
3 hrs	8.4	4.3	3.7	5.4	Absence
6 hrs	8.4	4.3	3.7	5.8	Absence
Heat treated AGM powder at 70 °C					
2 hrs	7.4	4.3	4.6	5.4	Absence
4 hrs	7.4	4.3	4.4	5.2	Absence
Heat treated AGM powder at 100 °C					
2 hrs	7.1	4.1	4.1	5.1	Absence
4 hrs	7	4	3.9	4.9	Absence
Heat treated AGM powder at 120 °C					
2 hrs	3.4	2.9	3.2	—	Absence
4 hrs	3.3	—	3.1	—	Absence
Heat treated AGM powder at 140 °C					
2 hrs	3.3	2.8	2	—	Absence
4 hrs	2.7	—	2	—	Absence
Heat treated AGM powder at 160 °C					
2 hrs	2.4	2.6	—	—	Absence
4 hrs	—	—	—	—	Absence

Estimated value. CFU is colony-forming units.

**Table S2. Analysis of variance (ANOVA) and significant coefficient for overall acceptability of biscuits**

Таблица S2. Дисперсионный анализ (ANOVA) и значимый коэффициент для общей приемлемости печенья

Source	Coefficient Estimate	Sum of Squares	Df	p-value
Model	5.70	10.21	2	< 0.0001
X <sub>1</sub>	-1.60	9.80	1	< 0.0001
X <sub>1</sub> <sup>2</sup>	0.1829	0.0591	1	0.1405
Residual		0.2305	10	
Lack of Fit		0.1969	6	0.1036
DF = 12				
R <sup>2</sup>	0.9779			
Adj-R <sup>2</sup>	0.9735			
Pred-R <sup>2</sup>	0.9657			
C.V. %	2.84			
PRESS	0.3583			

p-value is significant at p < 0.05, x<sub>1</sub> is coded AGM powder%

**Table S3. Analysis of variance (ANOVA) and significant coefficient for color value (L) of biscuits**

Таблица S3. Дисперсионный анализ (ANOVA) и значимый коэффициент для уровней цвета (L) печенья

Source	Coefficient Estimate	Sum of Squares	Df	p-value
Model	48.15	141.01	4	< 0.0001
X <sub>1</sub>	-9.60	43.91	1	< 0.0001
X <sub>1</sub> <sup>2</sup>	4.87	1.18	1	< 0.0001
X <sub>1</sub> <sup>3</sup>	4.60	8.34	1	< 0.0001
X <sub>1</sub> <sup>4</sup>	-4.32	1.06	1	0.0001
Residual		0.1854	8	
Lack of Fit		0.1141	4	0.3300
DF= 12				
R <sup>2</sup>	0.9987			
Adj-R <sup>2</sup>	0.9980			
Pred-R <sup>2</sup>	0.9962			
C.V. %	0.3239			
PRESS	0.5358			

p-value is significant at p < 0.05, x<sub>1</sub> is coded AGM powder%

**Table S4. Analysis of variance (ANOVA) and significant coefficient for color value (a) of biscuits**

Таблица S4. Дисперсионный анализ (ANOVA) и значимый коэффициент для уровней цвета (a) печенья

Source	Coefficient Estimate	Sum of Squares	Df	p-value
Model	13.12	6.94	4	< 0.0001
X <sub>1</sub>	-0.7594	0.2746	1	0.0001
X <sub>1</sub> <sup>2</sup>	-1.02	0.0520	1	0.0191
X <sub>1</sub> <sup>3</sup>	-0.5895	0.1368	1	0.0014
X <sub>1</sub> <sup>4</sup>	0.9460	0.0508	1	0.0201
Residual		0.0485	8	
Lack of Fit		0.0160	4	0.7441
DF= 12				
R <sup>2</sup>	0.9931			
Adj-R <sup>2</sup>	0.9896			
Pred-R <sup>2</sup>	0.8222			
C.V.%	0.6125			
PRESS	1.24			

p-value is significant at p < 0.05, x<sub>1</sub> is coded AGM powder%

**Table S5. Analysis of variance (ANOVA) and significant coefficient for color value (b) of biscuits**

Таблица S5. Дисперсионный анализ (ANOVA) и значимый коэффициент для уровней цвета (b) печенья

Source	Coefficient Estimate	Sum of Squares	Df	p-value
Model	32.38	79.58	2	< 0.0001
X <sub>1</sub>	-4.57	79.55	1	< 0.0001
X <sub>1</sub> <sup>2</sup>	1.72	5.23	1	< 0.0001
Residual		1.01	10	
Lack of Fit		0.8922	6	0.0650
DF= 12				
R <sup>2</sup>	0.9875			
Adj-R <sup>2</sup>	0.9850			
Pred-R <sup>2</sup>	0.9370			
C.V.%	0.9951			
PRESS	5.08			

p-value is significant at p < 0.05, x<sub>1</sub> is coded AGM powder%

**Table S6. Analysis of variance (ANOVA) and significant coefficient for texture of biscuits**

Таблица S6. Дисперсионный анализ (ANOVA) и значимый коэффициент для текстуры печенья

Source	Coefficient Estimate	Sum of Squares	Df	p-value
Model	6.80	6.44	4	< 0.0001
X <sub>1</sub>	-1.62	1.25	1	< 0.0001
X <sub>1</sub> <sup>2</sup>	1.55	0.1199	1	0.0421
X <sub>1</sub> <sup>3</sup>	0.6939	0.1896	1	0.0161
X <sub>1</sub> <sup>4</sup>	1.13	0.0728	1	0.0965
Residual		0.1643	8	
Lack of Fit		0.1176	4	0.1966
DF= 12				
R <sup>2</sup>	0.9751			
Adj-R <sup>2</sup>	0.9627			
Pred-R <sup>2</sup>	0.9303			
C.V.%	2.30			
PRESS	0.4601			

p-value is significant at p < 0.05, x<sub>1</sub> is coded AGM powder%

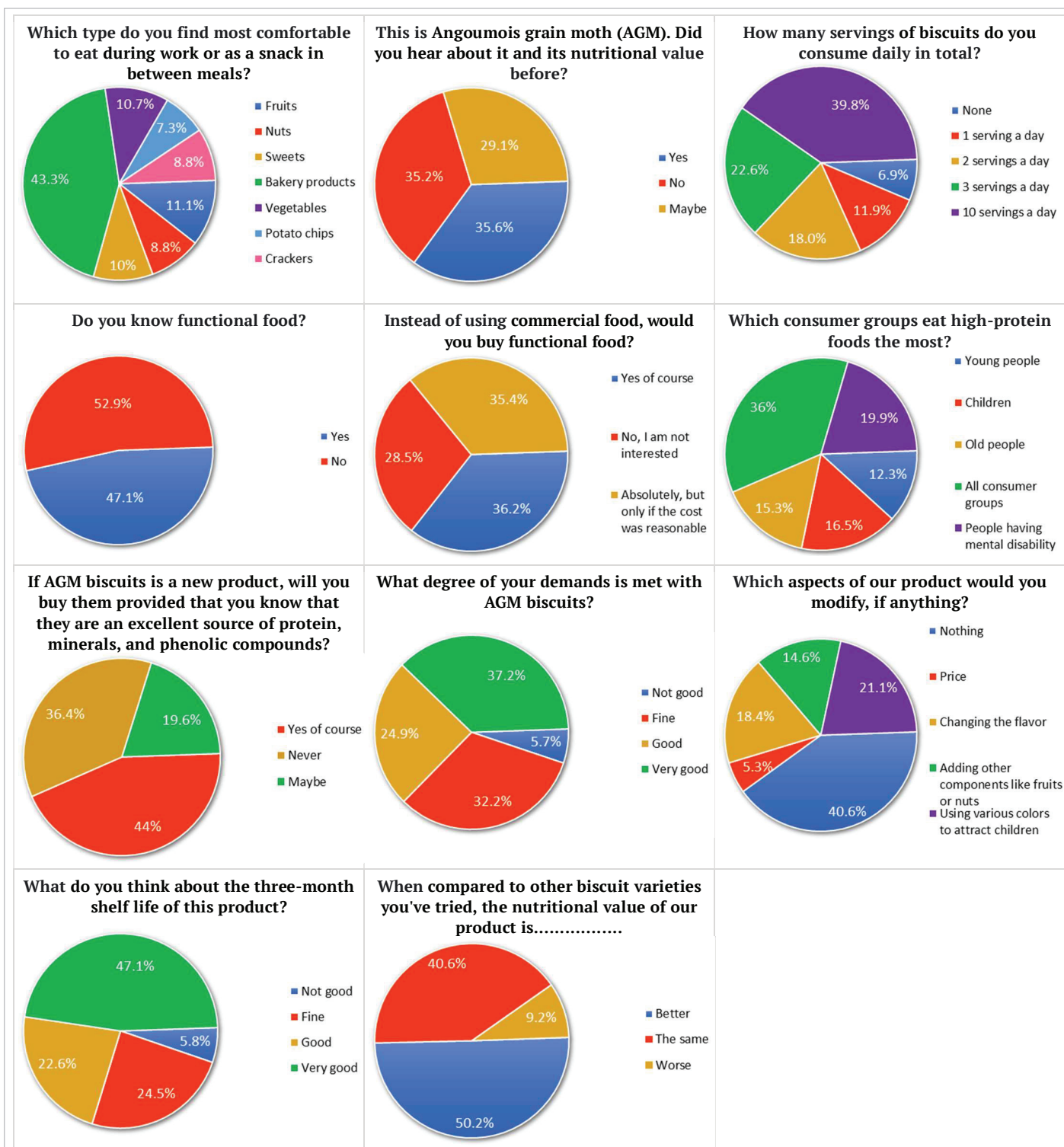


Figure S1. Results of Part 1 questions that concentrated on the objective, which was to see a degree of consumer perception about biscuits in general and AGM biscuit in particular

Рисунок S1. Результаты вопросов части 1, сконцентрированные на цели, которая заключалась в установлении степени потребительского восприятия печенья в целом и печенья AGM в частности

