

Volume 8, Issue 1, 2025

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

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.

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

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

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 04.04.2025.

Дата выхода в свет 07.04.2025.

Тираж 300 экз. Заказ № 21.

© ФНЦПС, 2025

© Авторы, 2025

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

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

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

Горбунова Наталья 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

Tarek Gamal Abdelmaksoud — Доктор пищевых наук, Адъюнкт-профессор Кафедры пищевых наук, Сельскохозяйственный факультет, Каирский университет, Гиза, Египет

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 биорганического 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

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.

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

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

FOOD SYSTEMS
www.fsjour.com

**Founder, Publisher and Printing Office:
Federal State Budgetary Scientific Institution
“V.M. Gorbatov 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. Gorbatov 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

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 04.04.2025.

Released from press 07.04.2025.

Circulation — 300 copies. Order № 21.



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

© FNCPS, 2025
© Authors, 2025

EDITORIAL BOARD

EDITOR-IN-CHIEF:

Oxana A. Kuznetsova, Doctor of technical sciences, Director, V. M. Gorbatov 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. Gorbatov 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. Gorbatov 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

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, Sagami-hara, 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. Gorbatov 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

Tarek Gamal Abedelmaksoud, PhD of Food Science, Associate Professor, Food Science Department, Faculty of Agriculture, Cairo University, Giza, Egypt

PRODUCTION EDITOR:

Aleksandr N. Zakharov, Candidate of technical sciences, Senior research worker, Head of the Department of Editorial and Publishing, V. M. Gorbatov 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. Gorbatov Federal Research Center for Food Systems of RAS, Vidnoe, Moscow region, Russia

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

СОДЕРЖАНИЕ

Abdulrahman H. Laftah, Nawfal Alhelfi, Sadeq K. Al-Salait, Tarek Gamal Abdelmaksoud ALLEVATION OF DOXORUBICIN-INDUCED NEPHROTOXICITY IN BREAST CANCER MICE BY USING COMBINATION OF GREEN TEA AND MORINGA: FOCUS ON ANTIOXIDANT, APOPTOSIS, INFLAMMATION, AND HISTOPATHOLOGICAL INSIGHTS	4
Dinu Turcanu, Rodica Siminiuc KNOWLEDGE, PERCEPTION, AND CHALLENGES OF ADOPTING A GLUTEN-FREE DIET IN THE REPUBLIC OF MOLDOVA: A CROSS-SECTIONAL STUDY	16
Куликов Д. С., Королев А. А. АСПЕКТЫ ФЕРМЕНТАТИВНОЙ МОДИФИКАЦИИ РАСТИТЕЛЬНЫХ БЕЛКОВ.....	22
Утьянов Д. А., Вострикова Н. Л., Василевская Е. Р., Куликовский А. В., Карабанов С. Ю. ХИМИЧЕСКИЕ КОНТАМИНАНТЫ, ПОПАДАЮЩИЕ В ПИЩЕВУЮ ПРОДУКЦИЮ ИЗ ПОЛИМЕРНОЙ УПАКОВКИ. ОБЗОР	29
Roman A. Uvarov, Alena I. Ermochenko OPTIMIZATION OF AEROBIC FERMENTATION FOR ORGANIC WASTE: KEY FACTORS AND THEIR IMPACT ON THE QUALITY OF THE FINAL PRODUCT	36
Kouadio A. Goudé, Koffi H. Kouamé, Oscar J. Gbotognon, Eugène J. P. Kouadio PHENOLIC COMPOUNDS, ORGANIC ACIDS, METHYLBXANTHINES AND SOLUBLE SUGARS PROFILES IN COCOA PLACENTA	42
Кишилова С. А. Рожкова И. В., Фоменко О. Ю. ПРОБЛЕМЫ ОБЩЕСТВЕННОГО ЗДОРОВЬЯ И САНИТАРИИ, СВЯЗАННЫЕ С БАКТЕРИЕЙ <i>PSEUDOMONAS AERUGINOSA</i>	49
Бурак Л. Ч., Завалей А. П., Яблонская В. В., Сапач А. Н. ВЛИЯНИЕ ТЕРМОУЛЬТРАЗВУКОВОЙ ОБРАБОТКИ НА АНТИОКСИДАНТНУЮ АКТИВНОСТЬ СОКА БУЗИНЫ (<i>SAMBUCUS NIGRA</i> L.)	58
Неповинных Н. В., Петрова О. Н. ПИЩЕВЫЕ ГИДРОКОЛЛОИДЫ: КЛАССИФИКАЦИЯ, ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ СВОЙСТВА И ПРИМЕНЕНИЕ	66
Seemaisamy Revathi, Elham K. Nasser, H. Khassaf Wafaa, Ammar B. Altemimi, Sutikno Sutikno, Titik Kartika, Ikhsan Guswenrivo, Farhang H. Awlqadr, Tarek Gamal Abdelmaksoud <i>LAWSONIA INERMIS</i> EXTRACT: ANTIBACTERIAL, ANTICANCER AND ANTIOXIDANT PROPERTIES.....	73
Razel Elaine Grace A. Cataluña, Renato L. Base THEORETICAL AND CONCEPTUAL ANALYSIS: AFLATOXIN INTERVENTION OF MINDANAO, PHILIPPINES.....	81
Reda M. Mohamed, Marwa R. Ali FERMENTED CHICKPEA (<i>CICER ARIETINUM</i> L.) AS A FUNCTIONAL FOOD: MEATLESS “VEGAN” BURGERS	93
Пивненко Т. Н., Позднякова Ю. М., Есипенко Р. В. ВЛИЯНИЕ ПРОДУКТОВ ПЕРЕРАБОТКИ ФУКУСОВЫХ ВОДОРΟΣЛЕЙ НА СТРУКТУРООБРАЗОВАНИЕ И ОКИСЛЕНИЕ ЛИПИДОВ В МЫШЕЧНОЙ ТКАНИ РЫБ.....	99
Endurance F. Isoje, Israel O. Okoro, Ali B. M. Ali, Great I. Edo, Emad Yousif, Joel Okpoghono, Edith O. Okoro, Solomon U. Okom, Arthur E. A. Essaghah, Huzaifa Umar, Joseph O. Owheru, Patrick O. Akpogheli, Dina S. Ahmed BIOCHEMICAL CHANGES IN RATS AFTER TREATMENT WITH SOFT DRINK AND MENTHOL FLAVOURED CANDY	106
Дыдыкин А. С., Василевская Е. Р., Асланова М. А., Деревницкая О. К., Полищук Е. К., Купаева Н. В., Молдованов Г. Г. РАЗРАБОТКА БАД С НАНОЧАСТИЦАМИ ОКСИДА ЖЕЛЕЗА И ИЗУЧЕНИЕ ЕЕ ХРОНИЧЕСКОЙ ТОКСИЧНОСТИ И БИОЛОГИЧЕСКИХ ЭФФЕКТОВ	114
Жамсаранова С. Д., Ширеторова В. Г., Эрдынеева С. А., Тыхеев А. А., Лебедева С. Н. ОЦЕНКА АДАПТОГЕННЫХ СВОЙСТВ ФИТОЧАЯ НА ОСНОВЕ ХВОИ И МИКРОСТРОБИЛОВ СОСЕН	124
Глухарев А. Ю., Бордиян В. В., Кузина Т. Д., Кучина Ю. А., Деркач С. Р. ПОЛУЧЕНИЕ И ИСПОЛЬЗОВАНИЕ БЕЛКА ИЗ СТВОРОК РАКОВИН МИДИЙ В СУХОМ РЫБНОМ СОУСЕ	134
Витол И. С., Мелешкина Е. П. ФЕРМЕНТАТИВНЫЕ ГИДРОЛИЗАТЫ ЗЕРНА И ПРОДУКТОВ ЕГО ПЕРЕРАБОТКИ. ОБЗОР ПРЕДМЕТНОГО ПОЛЯ	144

DOI: <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2025-8-1-4-15>



Received 24.07.2024

Accepted in revised 01.02.2025

Accepted for publication 04.02.2025

© Laftah A. H., Alhelhi N., Al-Salait S. K., Abdelmaksoud T. G., 2025

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

Original scientific article

Open access

ALLEVIATION OF DOXORUBICIN-INDUCED NEPHROTOXICITY IN BREAST CANCER MICE BY USING COMBINATION OF GREEN TEA AND MORINGA: FOCUS ON ANTIOXIDANT, APOPTOSIS, INFLAMMATION, AND HISTOPATHOLOGICAL INSIGHTS

Abdulrahman H. Laftah^{1,*}, Nawfal Alhelhi¹, Sadeq K. Al-Salait², Tarek Gamal Abdelmaksoud³

¹Department of Food Science, College of Agriculture, University of Basra, Basra, Iraq

²Hematologist, Oncology unit, Al-Sadr Hospital, Basra, Iraq

³Food Science Department, Faculty of Agriculture, Cairo University, Giza, Egypt

KEY WORDS:

doxorubicin, kidney toxicity, breast cancer, green tea, moringa, apoptosis, inflammation, antioxidant, histopathological

ABSTRACT

Doxorubicin (DXR)-induced nephrotoxicity remains a major concern in cancer treatment and calls for potential prevention of kidney injury. This study aims to evaluating the nephroprotective potentials of green tea and moringa used as 1% and 2% water extracts in DXR-induced kidney damage in female Balb/C mice with breast cancer. Thirty six female Balb/C mice were divided into six groups as follows: healthy control; 4T1 cells cancer-induced; healthy mice with DXR treatment; cancer-induced with DXR treatment; cancer-induced under DOX and treated with 1% green tea and moringa combination; cancer-induced under DOX and treated with 2% green tea and moringa combination. The variables of the experiment were body weight, tumor volume, antioxidant enzyme activities (CAT, GPx, SOD), oxidative stress markers (TOS, TAC, OSI), pro-inflammatory cytokines (IL-1, TNF- α), and apoptosis and inflammation-related genes (BAX, BCL2, NLRP3, NFKB). Histological analysis of the kidneys was also done to check for cellular changes. DXR treatment led to a decrease in the body weight and an increase in kidney enzymes, which is an indication of kidney damage. The levels of these enzymes were significantly lowered by the combination of herbal extracts, especially at 2%, indicating nephroprotective properties. The herbal extracts brought back the antioxidant enzyme activities to normal and reduced the oxidative stress markers in the kidney through raising the CAT, GPx, and SOD and decreasing the TOS and OSI levels. Furthermore, the herbal treatment also decreased the levels of pro-inflammatory cytokines and affected the apoptosis related gene expressions; the BAX was down-regulated and BCL2 was up-regulated, which helped in increasing the cell survival and decreasing inflammation. The extracts also reduced the NLRP3/NFKB in the kidneys of DXR-treated mice in a dose dependent manner. Based on these results, 1% and 2% mixture of green tea and moringa leaf aqueous extracts (1:1 ratio) can be considered an appropriate combination to reduce DOX-induced nephrotoxicity and kidney injury in cancer patients.

Поступила 24.07.2024

Поступила после рецензирования 01.02.2025

Принята в печать 04.05.2025

© Лафта А. Х., Алхулфи Н., Эль-Салейт С.К., Абедельмаксуд Т. Г., 2025

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

Научная статья

Open access

ОСЛАБЛЕНИЕ ИНДУЦИРУЕМОЙ ДОКСОРУБИЦИНОМ НЕФРОТОКСИЧНОСТИ У МЫШЕЙ С РАКОМ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ ПУТЕМ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ КОМБИНАЦИИ ЗЕЛЕННОГО ЧАЯ И МОРИНГИ: АКЦЕНТ НА АНТИОКСИДАНТНЫЕ, АПОПТИЧЕСКИЕ, ВОСПАЛИТЕЛЬНЫЕ И ГИСТОПАТОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ

Лафта А. Х.^{1,*}, Алхулфи Н.¹, Эль-Салейт С.К.², Абедельмаксуд Т. Г.³

¹Факультет науки о пище, Сельскохозяйственный колледж, Университет Басры, Басра, Ирак

²Онкологическое отделение, больница Аль-Садра, Басра, Ирак

³Кафедра пищевых наук, Сельскохозяйственный факультет, Каирский университет, Гиза, Египет

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: АННОТАЦИЯ

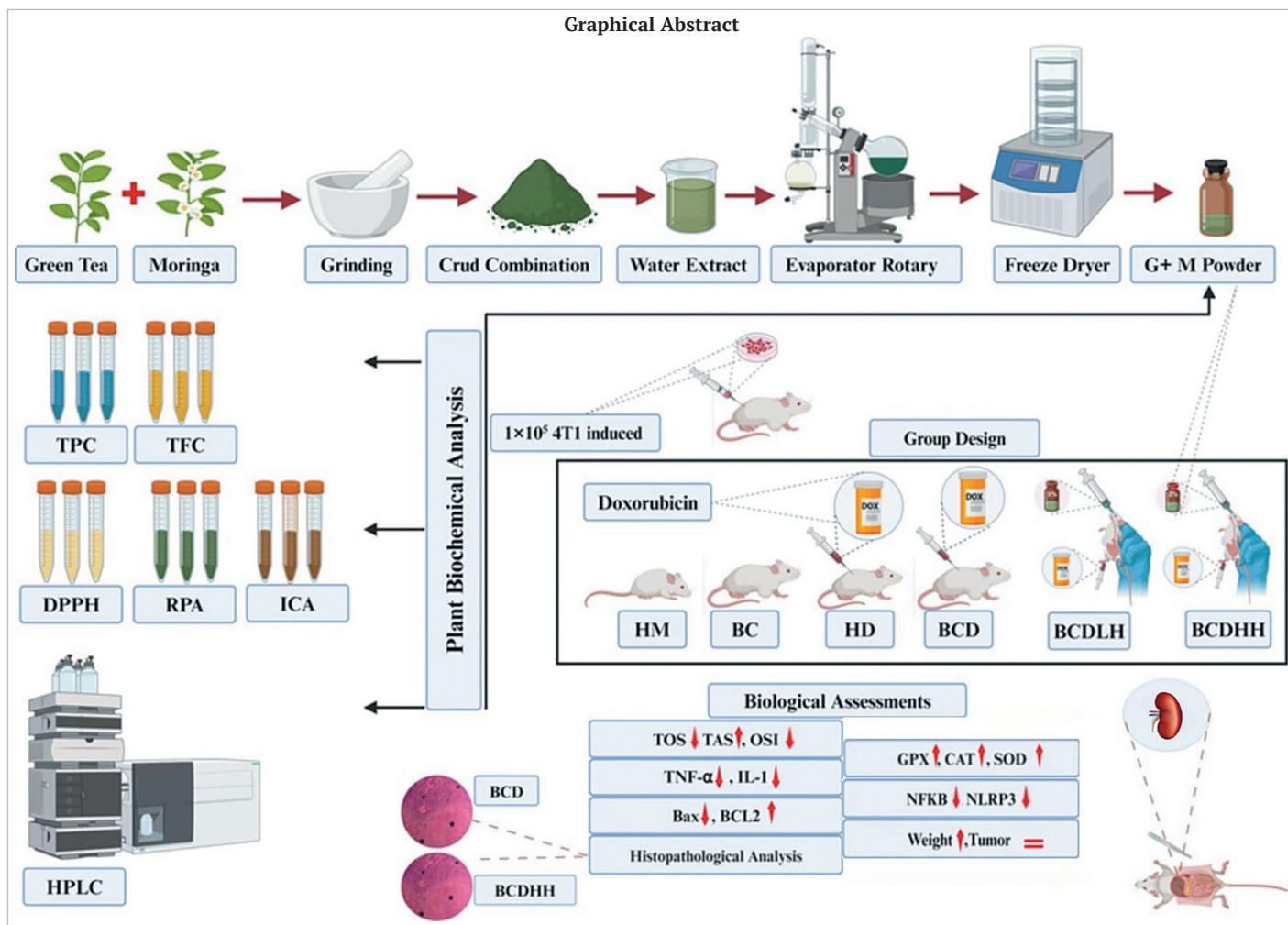
доксорубин, рак молочной железы, зеленый чай, моринга, апоптоз, воспаление, антиоксидант, гистопатологический

Индукцируемая доксорубицином (DXR) нефротоксичность продолжает вызывать большую обеспокоенность при лечении рака и требует эффективного предотвращения повреждения почек. Целью данного исследования является оценка нефропротективного потенциала зеленого чая и моринги в 1% и 2% водных экстрактах при индуцированном доксорубицином повреждении почек у самок мышей Balb/C с раком молочной железы. Тридцать шесть самок мышей Balb/C были разделены на шесть групп следующим образом: здоровый контроль; мыши с раком молочной железы, индуцированным клетками 4T1; здоровые мыши, получавшие DXR; мыши с индуцированным раком молочной железы, получавшие DXR; мыши с индуцированным раком молочной железы, получавшие DXR и 1%-ю комбинацию зеленого чая и моринги; мыши с индуцированным раком молочной железы, получавшие DXR и 2%-ю комбинацию зеленого чая и моринги. Переменными эксперимента были масса тела, объем опухоли, активность антиоксидантных ферментов (CAT, GPx, SOD), маркеры окислительного стресса (TOS, TAC, OSI), провоспалительные цитокины (IL-1, TNF- α), и гены апоптоза и связанные с воспалением гены (BAX, BCL2, NLRP3, NFKB). Также был проведен гистологический анализ почек для анализа повреждений клеток. Обработка DXR приводила к снижению массы тела и увеличению ферментов почек, что указывало на повреждение почек. Уровни этих ферментов были значимо снижены в результате применения комбинации травяных экстрактов, особенно при концентрации 2%, что говорит об антинефротективных свойствах. Экстракты трав возвращали активности антиоксидантных ферментов к нормальному уровню и снижали

FOR CITATION: Laftah A. H., Alhelhi N., Al-Salait S. K., Abdelmaksoud T. G. (2025). Alleviation of doxorubicin-induced nephrotoxicity in breast cancer mice by using combination of green tea and moringa: Focus on antioxidant, apoptosis, inflammation, and histopathological insights. *Food Systems*, 8(1), 4–15. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2025-8-1-4-15>

ДЛЯ ЦИТИРОВАНИЯ: Лафта А. Х., Алхулфи Н., Эль-Салейт С.К., Абедельмаксуд Т. Г. (2025). Ослабление индуцируемой доксорубицином нефротоксичности у мышей с раком молочной железы путем использования комбинации зеленого чая и моринги: акцент на антиоксидантные, апоптические, воспалительные и гистопатологические аспекты. *Пищевые системы*, 8(1), 4–15. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2025-8-1-4-15>

маркеры окислительного стресса в почках в результате повышения уровней CAT, GPx, и SOD, и снижения уровней TOS и OSI. Кроме того, обработка травами также снижала уровни провоспалительных цитокинов и влияла на экспрессию генов, связанных с апоптозом; BAX был негативно регулирован, BCL2 был позитивно регулирован, что способствовало увеличению выживаемости клеток и снижению воспаления. Экстракты также снижали NLRP3/NFkB в почках обработанных DXR мышей дозозависимым образом. На основании этих результатов сделан вывод, что 1% и 2% водные экстракты смеси листьев зеленого чая и моринги (соотношение 1:1) могут считаться пригодной комбинацией для снижения индуцируемой DOX нефротоксичности и повреждения почек у пациентов с раком.



1. Introduction

Doxorubicin is an anthracycline class of chemicals with the therapeutic role in chemotherapy used widely for treating the breast cancer and many other types of cancer. Although doxorubicin is effective in eliminating cancer cells in the body, its administration poses serious threats that include damaging the renal system. The fact has been clarified in several investigations showing that doxorubicin nephrotoxicity results in renal damage involving features such as glomerulosclerosis, interstitial fibrosis, albuminuria, a change in serum creatinine level, reduced glomerular filtration rate, and histological changes in the kidney [1]. Doxorubicin-induced nephrotoxicity is directly associated with oxidative stress and mitochondrial dysfunction, and these are crucial factors in renal toxicity [2]. The nephrotoxicity of doxorubicin is evidenced to be causing inflammatory changes that result in an increase in permeability of capillary walls and the shrinkage of the glomerulus [3]. Also, doxorubicin induces podocyte injury in the kidneys that leads to proteinuria and nephropathy, which shows that it has a toxic effect on the kidneys [4]. One of the processes affecting doxorubicin toxicity is the oxidation of cellular components due to the formation of reactive oxygen species, which is considered to be the main mechanism in the development of nephrotoxic effects. There is evidence that doxorubicin, causing kidney injury, activates oxidative stress, and mitochondrial dysfunction, along with inflammation [5]. The effect of the drug on the chain of mitochondrial electron transport stimulates the formation of reactive oxygen species and enhances the stress of renal cells in oxidation [1,6]. When doxorubicin is given repeatedly, this drug causes renal toxicity mainly due to its toxic effects on DNA and mitochondria [7].

Due to the presence of a number of bioactive compounds and plant-based nutrients, functional foods have emerged as the probable complementary therapies in cancer patients. Chemotherapy can be beneficial for cancer treatment, but it also has adverse side effects on the patient's body, and functional foods offer protective mechanisms that form a repertoire of defensive actions against those side effects. These compounds contain a wide range of health-enhancing attributes, primarily phytochemicals that are present in fruits, vegetables, legumes, seeds, whole grains, herbs, and spices including flaxseeds. These compounds have several advantages such as anti-cancer, antioxidant, and anti-inflammatory activities. Herbs and spices are vital ingredients that are incorporated into cooking meals in most parts of the world. Besides improving the taste of foods, they also possess some therapeutic properties and thus, cannot be overemphasized in functional foods [8,9,10]. Research has demonstrated that nephrotoxicity due to doxorubicin can be prevented by using natural compounds like crocin and luteolin, which possess antioxidant and anti-inflammatory effects [11,12]. The damage to the kidney by doxorubicin has been checked to occur through the formation of free radicals which causes oxidative stress, according to [1].

Camellia sinensis green tea contains polyphenols and other antioxidants that are known to have the nephroprotective property. Research has revealed that green tea polyphenols are effective in the protection of the kidney against toxins including heavy metals, through their action of fighting free radicals and inflammation [13]. Green tea extracts have been found to prevent tissue damage and inflammation caused by pollutants and toxins, which implies a potential in preventing organ damage [14]. It has been observed that green tea lowers oxidative stress and mitigates

renal toxicity in animal models, which makes it useful in the management of kidney diseases [15]. Previous studies have also indicated that the seed extract of moringa is protective for the liver and kidney tissues against toxic substances such as dichlorvos in rats [16]. Several antioxidant compounds were identified in the moringa extract. These antioxidant compounds have the potential to boost the activity of SOD, CAT, and GSH, reduce the levels of inflammatory cytokines, and thus, play a protective role for the kidneys [17].

Also, the effect of moringa water extract has been investigated for the prevention of gentamicin-induced hepatorenal toxicity in animal models. In the study done by Lukiswanto et al. [18], the oral administration of the moringa leaf extract has been established to alleviate the hepatotoxicity and nephrotoxicity effect of gentamicin, hence playing a protective role against drug-induced organ injury. The flavonoids and phenolic products present in the extract of *Moringa oleifera* seed inhibit the destruction of the renal tissue through cytoprotection and antioxidant activity [19].

Synergism can be defined as the situation where the total effect of chemicals is more than the effect of each of the chemicals taken independently [20]. The active substances used in the preparation of herbal medicines are not simple and come in many forms that make the medication diverse in its effects. Furthermore, all the active ingredients of all used herbs can interact and increase the therapeutic effect to treat various diseases. The coaction of two or more herbs during treatment has a better outcome because it affects multiple pathways of the disease development. This way, the probability of attaining better treatment results is higher compared to the probability of merely utilizing a single herb, particularly for ailments that have several causes [21]. The use of several herbs may reduce the side effects that are associated with high doses of a single herb [21,22,23]. A promising approach to the application of herbal medicines is their use with nanoscale drug delivery systems, which showed the potential of enhancing the antioxidant and anti-inflammatory activities and improving the protective mechanism in various diseases [24].

The 4T1 breast cancer model is well understood when it comes to the progression of breast cancer and the identification of potential treatment regimens. Thus, it would be most appropriate to use it in the assessment of hepatotoxicity resulting from chemotherapy drugs. From this animal model of breast cancer, it is possible to get many insights into how herbal therapies operate and the extent of their efficacy [25,26,27].

This paper aimed to assess whether combined green tea and moringa have the nephroprotective potential when used in doxorubicin-treated mice with breast cancer. In particular, this study aims at assessing the efficacy of green tea and moringa combination on apoptotic, inflammatory and oxidative pathways in the kidney with the purpose of widening the knowledge concerning the molecular mechanisms of the prevention of doxorubicin-induced nephrotoxicity.

2. Materials and methods

2.1. Collection, authentication and preparation of plants

The herbs were obtained from local vendors in Basra Governorate, situated in the southern area of Iraq. A specialist in medicinal plants from the Department of Horticulture at the University of Basra confirmed the

authenticity of the plants. The samples exhibited no apparent contamination and were selected from dried leaves. The items received a comprehensive inspection to identify any contaminants and foreign objects. The herbs were ground into a fine powder using a manual grinder (DAMFOX, No: MK-Y599, Germany) and all samples were kept at room temperature until they were analyzed.

2.2. Preparation of water extracts of herbs

To make water extracts, 60 g of herb powder was mixed with 300 mL of boiling distilled water and stirred with a magnetic stirrer (Heidolph, Germany) for half an hour. The next step was to filter the samples under vacuum using a Whatman No. 1 filter paper and a Buchner funnel. After that, the solvent was removed and the extracts were dried using a rotary evaporator RE300 DB (Stuart, UK) set to 40 °C to concentrate the filtrate. Afterward, a freeze drier (CHRIST, Germany) was used to dry the samples. The resulting dry samples were then stored in amber glass tubes at a temperature of –18 °C until they were needed. A 1:1 ratio of green tea aqueous extract to moringa leaf aqueous extract was used.

2.3. HPLC Analysis

Following the methods described in the research by Mradu et al. [28], HPLC analysis was carried out. In brief, SYKAM S500 HPLC system series from Germany was used for the HPLC analysis, together with a PDA detector and a C18-ODS column from Zorbax Eclipse Plus with a particle size of 25 cm × 4.6 mm. The mobile phase consisted of DW (25%) with methanol (70%) and formic acid (5%). Using a constant flow rate of 1.0 mL/min, HPLC profiling was carried out at a temperature of 30 °C. For analysis, a wavelength of 280 nm was used, and 10 µL quantities were introduced into the system for each sample. The following acids and their standards were bought from Sigma-Aldrich in Germany: kaempferol, quercetin, catechin, ellagic acid, syringic acid, and hydrobenzoic acid (Figure 1).

2.4. Determination of total phenolic content (TPC)

The method for the assessment of TPC with the use of the Folin-Ciocalteu reagent, which was supplied by Avonchem of the United Kingdom, was applied as described by Kumar et al. [29] with slight modifications. Therefore, 100 µL of Folin-Ciocalteu reagent was diluted to 1/10 before adding it to 500 µL of each extract. The mixture was mixed thoroughly with 4.5 mL of distilled water and 0.5 mL of the 7.5% (w/v) sodium carbonate solution. After 5 minutes at room temperature, the samples were incubated. The mixture was mixed by vortexing and then was left at room temperature for 120 minutes in the dark. The optical density at 760 nm was recorded with a blank and a Metstar MUV-61PCS spectrophotometer from the Optima, England. A calibration curve for gallic acid, sourced from BHD in England, was used to determine the total phenolic content (TPC) at varying concentrations of 0, 100, 200, and 300 mg/g. Data obtained were presented in mg of gallic acid equivalent (GAE) per gram of dry weight.

2.5. Determination of total flavonoid content (TFC)

The $AlCl_3$ colorimetric assay was employed in the determination of TFC as indicated by Pandey et al. [30]. According to this method, 4 mL of double-distilled water and 0.3 mL of sodium nitrite (5% w/v) purchased from BHD England and 1 mL of the aqueous extract containing 1 mg/mL

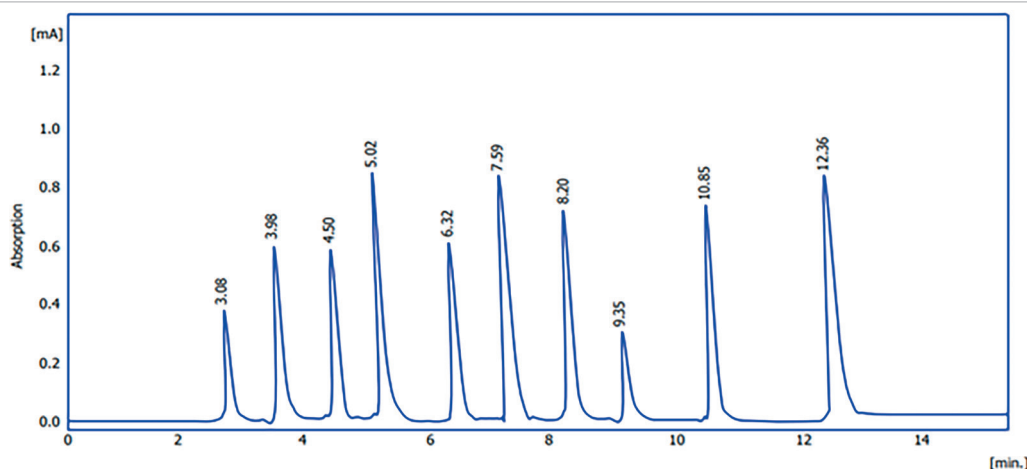


Figure 1. Chromatogram of chemical compounds standards. Hydrobenzoic acid (3.08 min), kaempferol (3.98 min), isorhamnetin (4.50 min), syringic acid (5.02 min), quercetin (6.32 min), silybinin (7.59 min), epicatechin (8.20 min), caffeine (9.35 min), catechin (10.85 min), ellagic acid (12.36 min), under wavelenth of 280 nm

Рисунок 1. Хроматограмма стандартов химических соединений. Гидроксibenзойная кислота (3,08 мин), кемпферол (3,98 мин), изорамнетин (4,50 мин), сиреневая кислота (5,02 мин), кверцетин (6,32 мин), силибинин (7,59 мин), эпикатехин (8,20 мин), кофеин (9,35 мин), катехин (10,85 мин), эллаговая кислота (12,36 мин), при длине волны 280 нм

of the sample were added to a test tube. It was allowed to sit at room temperature for 5 minutes once solution was added. It was then supplemented with 10% (v/v) BHD AlCl_3 from England. Then, 2 mL of 1 M NaOH solution (VWR Chemicals, USA) was added to 10 mL of double distilled water until the volume was reached. The absorbance at 510 nm was determined using a double-beam UV-VIS spectrophotometer (model Optima-England) after the mixture had been well stirred. The concentrations of quercetin were prepared in the range of 0 to 1000 mg/mL to estimate the amount of flavonoids. The results were expressed in mg of quercetin equivalent per gram of dry weight.

2.6. Evaluation of the antioxidant potential

2.6.1. DPPH free radical scavenging assay

The antioxidant potential of the extracts was determined using the 2, 2'-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) (Sigma-Aldrich, Germany) free radical scavenging activity method following the method described by Phuyal et al. [31]. An amount of 0.5 ml of the extracts (200 and 400 mg/g) was mixed with 1.0 ml DPPH solution and allowed to react at room temperature for 30 min in the dark. A control was prepared using 1 mL methanol and 1 mL DPPH solution. Lastly, the absorbance of the solutions was taken at 517 nm using a spectrophotometer made by England's company Optima. BHT from Samchun, Korea was used as a standard at concentrations of 200 and 400 mg/mL. Radical scavenging potential was determined by applying the following relationship formula:

$$\text{DPPH\%} = 1 - \frac{A_{\text{sample}}}{A_{\text{control}}} \times 100\%. \quad (1)$$

where A_{control} is a control sample absorbance; A_{sample} is the extract absorbance.

2.6.2. Ferric reducing antioxidant power (FRAP) activity

FRAP activity was assessed according to the methodology described by Védékoi et al. [32]. Three milliliters of 1% potassium ferricyanide and one milliliter of a sodium phosphate buffer (0.2 M, pH 6.6) from Ino Lab pH7110 WTW, UK were combined in a test tube with one milliliter of the sample, which concentrations varied from 200 to 400 mg/g. The components were separated by centrifugation of the combination for 10 minutes at 3000 rpm in a Taiwanese-made Harmonic Series centrifuge (GEMMY, Taiwan). Prior to centrifugation, the mixture was heated in a water bath at 50 °C for 20 min. Two milliliters of 10% trichloroacetic acid were then added to the mixture. The mixture consisted of 2 milliliters of distilled water (DW), 0.5 milliliters of a recently prepared 1% ferric chloride (FeCl_3) solution from England (BHD), and 2 milliliters of the upper layer of the solution. Absorbance of the mixture was determined at 700 nm using a UV-VIS spectrophotometer (Optima England). The capacity of the reaction mixture to reduce ferric ions is strongly correlated with its absorbance. The total antioxidant content was determined and represented as absorbance values. Tocopherol served as a positive reference for comparative purposes.

2.6.3. Metal chelating ability

Chelation of ferrous ions was measured following the procedure described by Gulcin et al. [33]. In brief, several quantities (ranging from 200 to 400 mg/g) of the solution were made by mixing 0.25 mL of the extract with 0.05 mL of FeCl_2 (2mM). Sigma-Aldrich of Germany supplied ferrozine (2 mM), which was introduced to the mixture in an amount of 0.2 mL. After being mixed, the mixture was let to sit at 25 °C for 10 minutes. A wavelength of 562 nm was then used to measure the absorbance values of the solution. We utilized the component EDTA as a control and expressed the results of the total antioxidant content as a percentage. A percentage (%) representing the chelating effect was calculated using the following formula:

$$\text{Metal chelating effect \%} = \frac{Abs_{\text{control}} - Abs_{\text{sample}}}{Abs_{\text{control}}} \times 100\%. \quad (2)$$

where Abs_{control} is a control sample absorbance; Abs_{sample} is the extract absorbance.

2.7. Animals

The StemGene Biohealth laboratory in Ahvaz, Iran, supplied us with 36 female BALB/c wild-type mice that were 8 weeks old and weighed 20–22 g. The animals had free access to water and food (Parsfeed Co Iran) and were kept in a typical laboratory setting with a 12-hour light/dark cycle, standard laboratory condition of humidity, and temperature ($22 \pm 2^\circ\text{C}$). The treatment that the animals received was strictly adhered to the protocols laid forth in the "Guide for the Care and Use of Laboratory Animals" (Washington, DC, USA).

2.7.1. 4T1 breast cancer mouse model

To create the 4T1 breast cancer mouse model, a group of twenty-four female BALB/c mice were used. The StemGene BioHealth laboratory in Ahvaz, Iran, provided the 4T1 cell line. A 10% fetal bovine serum (FBS)

supplemented with 100 unit/ml of penicillin/streptomycin and a DMEM-HG medium (Bioidea, Iran) were added to the cell culture media. The serum came from Biosera in France. In a controlled environment of 37 °C, 5% CO_2 , and 95% humidity, the cells were left to incubate for 36 hours. Isolated 4T1 cells (1×10^5) were injected subcutaneously in the 3rd mammary fat pad of BALB/c mice using 100 μL , following the previous description. The control groups of mice were given 100 μL of PBS at the same location [34]. Once weekly, we evaluated the weight of the mice, the size of the tumors, and the appearance. According to Sauter et al. [35], the width and length of the tumors were measured using calipers, and the volume was then determined using the following formula: $0.52 \times \text{width}^2 \times \text{diameter}$. Mouse behavior, food intake, and water intake were monitored every day.

2.8. Experimental design

At the point at which tumors became palpable and measured 100 mm in diameter, healthy and tumor-bearing mice were divided into six groups, with six mice in each group:

Control group (H): For five weeks, healthy mice were gavage-treated with 0.1 ml of normal saline once daily and received a single intraperitoneal injection of the same volume once per week.

Tumor group (BC): For four weeks, mice with tumors were gavage-treated with 0.1 ml of normal saline once daily and received a single intraperitoneal injection of the same volume once per week.

Healthy+DXR group (HD): Doxorubicin (5 mg/kg) (DOX-Cell, Germany) was administered intraperitoneally to healthy mice once weekly for five weeks.

Tumor + DXR (BCD) group: Mice with tumors were administered a single intraperitoneal dose of doxorubicin (5 mg/kg) once every week for a duration of five weeks.

Tumor +DXR+Formula 1 (BCDLH): Mice with tumors were given a single injection of doxorubicin (5 mg/kg) intraperitoneally once a week for five weeks, followed by a 1% dosage of green tea and moringa combination.

Tumor + DXR+Formula 2 (BCDHH): Mice with tumors were given a single injection of doxorubicin (5 mg/kg) intraperitoneally once a week for five weeks, followed by a 2% dosage of green tea and moringa combination.

2.9. Sampling

The rodents were anaesthetized with ketamine hydrochloride (50 mg/kg) and xylazine (5 mg/kg) and decapitated at the end of the experiment. The kidney tissue was removed prior to histological examination and fixed in 10% formalin buffer. After being collected and kept at -70°C , the kidney was used to analyze antioxidant indices and gene expression. For serum biochemical analysis, serum samples were extracted from the blood of each mouse via centrifugation at 2,700 g (GEMMY, Taiwan) for 15 minutes and stored at -20°C .

2.10. Tissue preparation

Following the methods previously detailed by Amiri et al. [37], the tissues were homogenized prior to the measurement of inflammatory and antioxidant/oxidant components. In brief, the kidney sample was ground up in a 1:5 ratio using a homogenizer (Heidolph, Germany), in 1000 μL of RIPA lysis buffer (which contains 150 mM of sodium chloride, 0.1% SDS, 25 mM of tris, pH 7.4, 1 mM of NaF, 1 mM of phenylmethylsulfonyl fluoride, 50 mM of sodium fluoride, and a protease inhibitor cocktail; Sigma-USA). Homogenate tissues were centrifuged at $10,000 \times \text{RPM}$ for 15 minutes at 4°C . The clear supernatants were carefully collected, divided, and promptly frozen at -70°C until use for analysis. A Bradford protein assay kit (made by KiaZist Co., Iran) was used to measure the concentration of proteins.

2.11. Antioxidant enzymes assay

Following the manufacturer's instructions, we used commercial kits to measure the activity of antioxidant enzymes such as catalase (CAT), glutathione peroxidase (GPX), and superoxide dismutase (SOD) (KiaZist Co, Iran). The antioxidant enzyme activities were measured in units per milligram of tissue protein.

2.12. Tissue cytokine measurement

The concentrations of IL1- β and TNF- α in the tissues were quantified using ELISA kits designed for mice (Sunlong Biotech, China) and reported as pg/mg of tissue protein.

2.13. Analysis of oxidative stress index

The oxidative stress index (OSI) was calculated by dividing the total oxidant status (TOS) by the total antioxidant capacity (TAC). A semi-automated microplate colorimetric technique was used to calculate the total oxidant status (TOS) using hydrogen peroxide (H_2O_2) as the standard of measurement. The test was conducted according to the method given by Erel in 2005 [38]. The ultimate outcomes were measured as millimoles

of hydrogen peroxide equivalent per milligram of protein. The measurement of total antioxidant capacity was conducted using the technique developed by Benzie and Strain [39]. In summary, a functional FRAP (ferrous reducing antioxidant power) solution was prepared via mixing acetate buffer with TPTZ solution in HCl. Following the addition and mixing of FeCl₃, a mixture of 10 µL of tissue homogenate and 290 µL of the specified working solution was added and incubated for 10 minutes at room temperature. The samples were analyzed for optical density at a wavelength of 532 nm. Vitamin C was utilized as a standard. The expression of TAC was measured in micromoles of vitamin C equivalents per milligram of protein.

The OSI was determined using the following formula:

$$OSI = \left[\frac{TOS \text{ in } \mu\text{mol H}_2\text{O}_2 \text{ Eq/mg protein}}{TAS \text{ in } \mu\text{mol Trolox Eq/mg protein}} \right] \times 100\%. \quad (3)$$

2.14. RNA isolation and cDNA synthesis

The RNA from kidney tissues was isolated using the Tissue RNA isolation kit (ParsTous, Iran) according to the manufacturer's instructions. The RNA purity at the 260/280 OD ratio and the integrity of the RNA were assessed with an Eppendorf µCuvette G1.0 microvolume measurement cell (Eppendorf, Germany). The cDNA synthesis process used RNA of high purity, with an optical density ratio of 260/280 above 1.8. The cDNA was generated using 1 µg of RNA using the Easy™ cDNA Synthesis Kit (ParsTous, Iran) and random hexamer, following the instructions provided by the manufacturer.

2.14.1. Real-time quantitative polymerase chain reaction (qRT-PCR)

The qRT-PCR primers were generated using Primer3 software version 4.1.1 (Table 1), using the sequences of NLRP3, NFκB, bax, bcl-2, and GAPDH genes obtained from the NCBI Gene bank (Table 1). The GAPDH gene was used for a reference gene in data analysis during this research. The SYBR® Green Real Time PCR Master mix from ParsTous in Iran was used for qRT-PCR analysis using the StepOnePlus™ Real-Time PCR detection System manufactured by Applied Biosystems in the United States. The PCR procedure included an initial denaturation step at 94 °C for 5 minutes, followed by 45 cycles of denaturation at 94 °C for 15 seconds and at 60 °C for 30 seconds. Two control reactions were taken into account, one being a negative control lacking cDNA and the other using RNA instead of DNA. The analysis included comparing the relative expression of the genes to the calibrator gene using the comparative 2–ΔΔCt technique. The amplification efficiency of the target genes relative to the reference gene (GAPDH) was assessed by creating several dilutions of cDNA and constructing an efficiency graph, using the methodology outlined in a recent study by Tabandeh et al. [40].

Table 1. Primers characteristics used for real-time quantitative polymerase chain reaction

Таблица 1. Характеристики праймеров, использованных для количественной полимеразной цепной реакции в реальном времени

Gene Bank	SEQUENCE	Size bp	GENE NAME
XM_017593963.1	F: AGTTCAACGGCAGTCAAG	119	GAPDH
	R: TACTCAGCACCAGCATCACC		
NM_007527.4	F: AGGATGCGTCCACCAAGAAGCT	102	BAX
	R: TCCGTGTCCACGTCAGCAATCA		
NM_009741.5	F: CCTGTGGATGACTGAGTACCTG	122	BCL2
	R: GCCAGGAGAAATCAAACAGAGG		
NM_145827.4	F: TCACAACCTCGCCCAAGGAGGAA	146	NLRP3
	R: AAGAGACCACGGCAGAAGCTAG		
NM_008689.3	F: GCTGCCAAAGAAGGACACGACA	130	NFKB-p65
	R: GGCAGGCTATTGCTCATCACAG		

2.15. Histopathological analysis

A 10% formalin buffer was used to fix the fresh kidney samples. Using the traditional approach, tissue microscopic slices were produced. Using a Histokinette machine (Leica, Germany), the necessary steps of tissue processing were carried out after fixation. These included dehydration with ethanol of progressively higher concentrations, clearing with xylene, and impregnation with paraffin. Slices with a thickness of 5–6 µm were made using a rotary hand microtome (Leica RM 2125, Leica Microsystems Nussloch GmbH, Germany) after the samples were removed from the Histokinette device. Hematoxylin and eosin staining (H&E) was used on the sections. A digital camera (Microbin5, Microteb, Iran) attached to an optical microscope (Olympus Optical Co., Japan) was used to examine the slides. The stained sections of tissues from control and treated rats

were scanned for the changes in the respective architectural pattern, portal triads, hepatocytes, sinusoids and the histopathological alterations in general.

2.16. Ethics statement

All animal procedures were approved by the University of Basrah — College of Veterinary Medicine Research Ethics Committee (Approval Number: 19/37/2024). The study complied with CIOMS and WHO guidelines, as well as OIE principles on animal ethics. Consent to participate is not applicable as this study did not involve human subjects.

2.17. Statistical analysis

Data analyses were conducted using Graph Pad Prism version 10 software (GraphPad software, San Diego, CA, USA). Statistical distinctions were ascertained by one-way analysis of variance (ANOVA). The Tukey test was used to assess the statistical significance of the findings. The data is shown as the mean value plus or minus a standard deviation of the mean (SD), and a P-value less than 0.05 was determined to be statistically significant.

3. Results and discussion

3.1. Characteristics of herbal extracts

In the present study, we evaluated the ability of green tea and moringa extracts, individually and in combination, to mitigate DXR-induced nephrotoxicity in a murine model of breast cancer. It is shown that both green tea and moringa extracts can prevent kidney damage induced by DXR through the action of antioxidants and anti-inflammatory agents. Moringa and green tea extracts have high total phenolic and flavonoid contents related to their antioxidant activity. The total phenolic content in green tea, moringa, and their combination was 152 mg/g, 99.7 mg/g, and 89.4 mg/g, while the content of flavonoids was 302 mg/g, 140 mg/g and 190 mg/g, respectively (Table 2).

Table 2. Total phenolic and flavonoid content in green tea, moringa and their mixture

Таблица 2. Общее содержание фенольных соединений и флавоноидов в зеленом чае, моринге и их смеси

Formulations	Total phenolic content (TPC) mg/g	Total flavonoid content (TFC) mg/g
Green tea + moringa	89.4	190
Green tea	152	302
Moringa	99.7	140

The antioxidant activities of the extracts were determined by several methods, such as DPPH radical scavenging assay, reducing power, and iron chelating assay. As can be seen from Table 3, green tea had better DPPH radical scavenging activity compared to moringa at the concentration of 200 mg/g and 400 mg/g with inhibition rates of 82.2% and 83%, while moringa revealed inhibition rates of 80.2% and 81.5%. This was five percent lower than the control at the same concentrations. The combination of both extracts enhanced the activity where inhibition rates of 84.45% were recorded at 200 mg/g and 84.7% at 400 mg/g.

The activity of iron chelation is useful in the prevention of oxidative stress since it inhibits iron-dependent generation of reactive oxygen species. Green tea was found to have a modest capacity to chelate iron (42% and 43% at 200 and 400 mg/g, respectively). Moringa showed reduced chelating ability at levels of 30% and 36%, while the combination had even lower efficacy of 22% and 41% at 200 and 400 mg/g when compared to EDTA, a very effective chelator with efficiencies of 97.4% and 98% at the same concentrations. This finding implies that although the herb extracts used in this study have high antioxidant activities, their iron chelating abilities are much lower than synthetic chelators, such as EDTA.

The reducing power of the extracts was determined. Green tea had values of 0.7 nm at 200 mg/g and 1.2 nm at 400 mg/g, and moringa showed values of 0.5 nm and 0.8 nm at the same concentration. The combination presented a lower level of reducing power with values of 0.3 nm at 200 mg/g and 0.42 nm at 400 mg/g compared to tocopherol, which recorded a higher reducing ability of 0.8 nm and 1.3 nm.

The HPLC analysis pointed out the presence of various bioactive phytochemicals in each extract including gallic acid, chlorogenic acid, and caffeic acid. Those compounds are known for their antioxidant and anti-inflammatory effects, which also support the focused protecting effects of the extracts.

These outcomes are in agreement with previous studies that have revealed the high levels of antioxidants in green tea and moringa plants Senanayake [41], Musial et al. [42], Pękal et al. [43], Lorenzo and Munekata [44], Peñalver et al. [45], Ntshambiwa et al. [46], Sreelatha et al. [47].

Table 3. Free radical scavenging by DPPH assay, reducing power by FRAP assay and metal chelating ability for green tea, moringa and their mixture

Таблица 3. Улавливание свободных радикалов, определенное методом DPPH, восстанавливающая способность, определенная методом FRAP, и способность хелирования металлов у зеленого чая, моринги и их смеси

	DPPH, %		
	G + MO	G	MO
200 mg/g	84.45	82.2	80.2
400 mg/g	84.7	83.8	81.5
	Iron chelation, %		
	G + MO	G	MO
200 mg/g	22	42	30
400 mg/g	41	43.6	36
	Reducing power WA		
	G + MO	G	MO
200 mg/g	0.508	0.893	0.359
400 mg/g	0.779	1.378	0.621

G: green tea; M: moringa; G + MO: green tea+moringa.

3.2. HPLC analysis

HPLC chromatograms of green tea, moringa, and their combination are presented in Figure 2, Figure 3 and Figure 4.

Concentrations of the active compounds in green tea, moringa, and their combination are shown in Figure 4. The combination of green tea and moringa had a higher content of kaempferol (38.9 ± 0.9 mg/kg; $p < 0.0001$)

compared to green tea (20.1 ± 0.1 mg/kg) and moringa (24.4 ± 0.4 mg/kg), respectively, followed by quercetin with a significantly higher content in the combination (34.5 ± 0.3 mg/kg; $p < 0.0001$) compared with green tea (18.7 ± 0.4 mg/kg) and moringa (20.6 ± 0.5 mg/kg). Moreover, the catechin content in the combination also showed a significant increase (18 ± 0 mg/kg; $p < 0.0001$) compared with green tea and moringa (13.6 ± 0.4 mg/kg and 9.8 ± 0.3 mg/kg, respectively). Ellagic acid and syringic acid were detected at concentrations of 12.6 ± 0.4 mg/kg and 13.6 ± 1 mg/kg, respectively, in moringa and 11.6 ± 0.4 mg/kg and 12.4 ± 0.3 mg/kg, respectively, in the combination, whereas in green tea they were absent. The concentration of hydrobenzoic acid was 16.9 ± 0.1 mg/kg in green tea and 16 ± 0.2 mg/kg in the combination, while in moringa it was not found.

3.3. The impact of herbal extracts on the body weight and tumor growth in mice given DXR

The results demonstrated that DXR-treated healthy mice had a significantly reduced body weight compared to untreated animals ($P < 0.001$). Malignant mice in the BCD group had the same result as untreated malignant animals in the BC group after receiving DXR treatment ($P < 0.01$). No difference in body weight change was seen between the untreated and treated groups of mice when DXR was administered at 1% or 2% herb combinations (BCDLH and BCDHH) compared to the control group (Figure 5 (A)).

The results regarding tumor size are shown in Figure 5 (B). A significantly smaller tumor size was seen in the BCD group, which was treated with DXR, as compared to the untreated mice (BC) group ($P < 0.001$). Statistically significant changes in tumor size were not seen in the BCD group or in the groups treated with 1% (BCDLH) or 2% (BCDHH) herb extract.

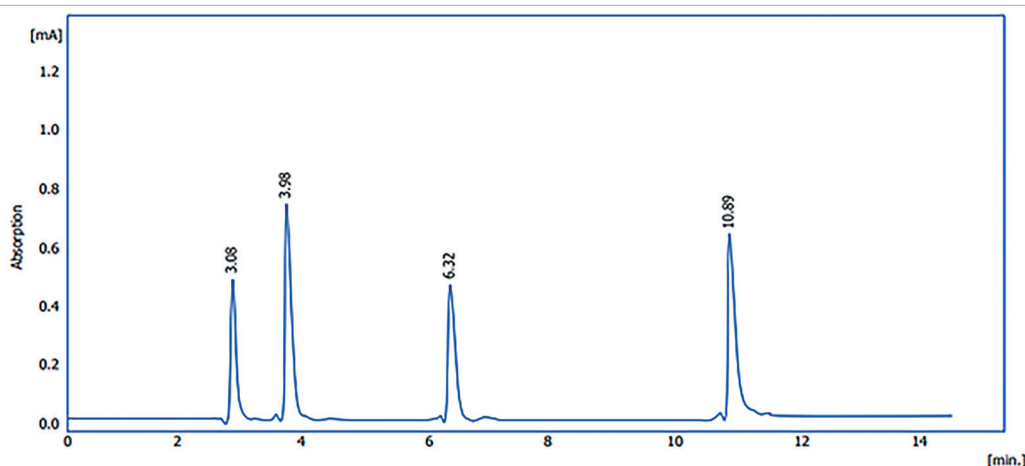


Figure 2. Chromatogram of chemical compounds of green tea. Hydrobenzoic acid (3.08 min), kaempferol (3.98 min), syringic acid (5.02 min), quercetin (6.32 min), and catechin (10.85 min) under wavelength of 280 nm

Рисунок 2. Хроматограмма химических соединений зеленого чая. Гидроксibenзойная кислота (3,08 мин), кемпферол (3,98 мин), сиреневая кислота (5,02 мин), кверцетин (6,32 мин) и катехин (10,85 мин) при длине волны 280 нм

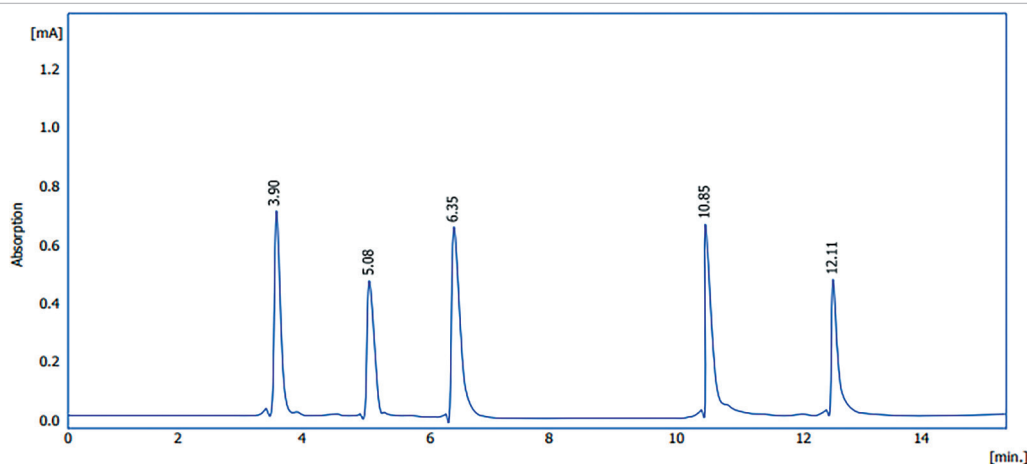


Figure 3. Chromatogram of chemical compounds of moringa. Kaempferol (3.98 min), quercetin (6.32 min), catechin (10.85 min), and ellagic acid (12.36 min) under wavelength of 280 nm

Рисунок 3. Хроматограмма химических соединений моринги. Кемпферол (3,98 мин), кверцетин (6,32 мин), катехин (10,85 мин) и эллаговая кислота (12,36 мин) при длине волны 280 нм

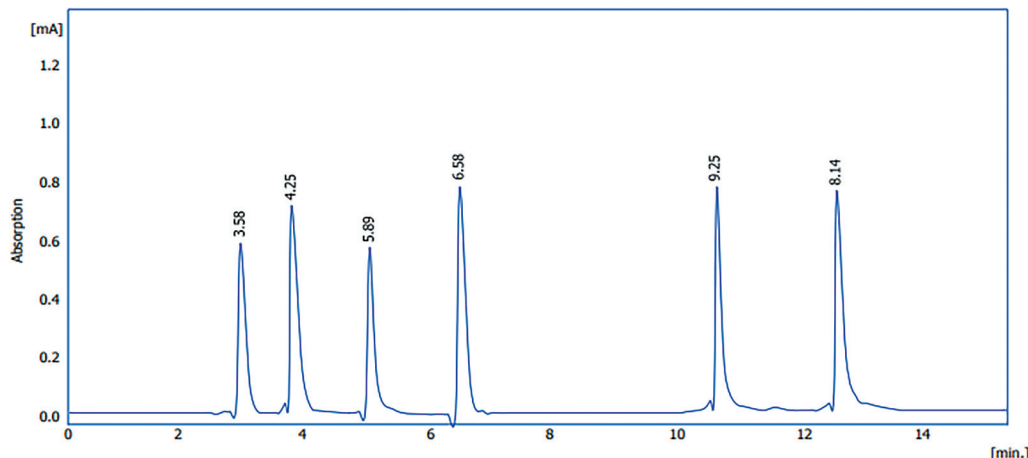


Figure 4. Chromatogram of chemical compounds of green tea and moringa combination. Hydrobenzoic acid (3.08 min), kaempferol (3.98 min), syringic acid (5.02 min), quercetin (6.32 min), catechin (10.85 min), and ellagic acid (12.36 min) under wavelength of 280 nm

Рисунок 4. Хроматограмма химических соединений комбинации зеленого чая и моринги. Гидроксибензойная кислота (3,08 мин), кемпферол (3,98 мин), сиреневая кислота (5,02 мин), кверцетин (6,32 мин), катехин (10,85 мин) и эллаговая кислота (12,36 мин) при длине волны 280 nm

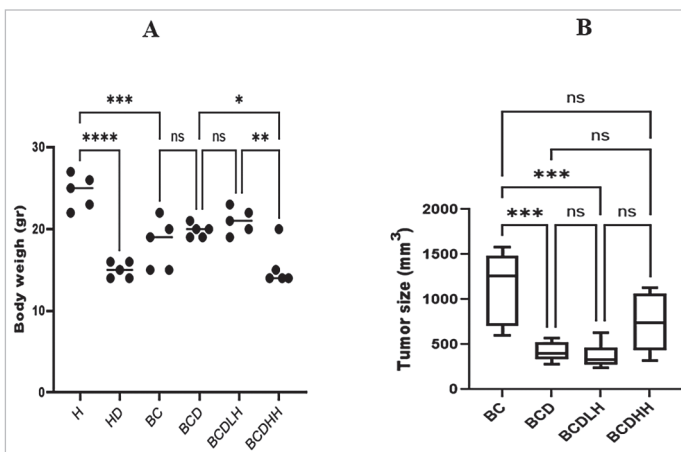


Figure 5. The body weight and tumor size of different animal experimental groups. Results are means $\pm$ SD. *, ** and *** represent the significant difference between different experimental groups at $p < 0.05$, $p < 0.01$ and $p < 0.001$, respectively. H: healthy group, HD: healthy group treated with DXR, BC: mice with breast cancer, BCD: DXR-treated mice with cancer, BCDLH: cancer mice treated with DXR and 1% herbal extract, BCDHH: cancer mice treated with DXR and 2% herbal extract

Рисунок 5. Масса тела и размер опухоли в различных группах экспериментальных животных. Результаты являются средними значениями $\pm$ стандартные отклонения. *, ** и *** представляют значимые различия между разными экспериментальными группами при $p < 0,05$, $p < 0,01$ и $p < 0,001$, соответственно. H: здоровая группа, HD: здоровая группа, получавшая DXR, BC: мыши с раком молочной железы, BCD: мыши с раком молочной железы получавшие DXR, BCDLH: мыши с раком молочной железы получавшие DXR и 1% травяного экстракта, BCDHH: мыши с раком молочной железы получавшие DXR и 2% травяного экстракта

The reduction in tumor size seen in mice given DXR is consistent with the shown anti-tumor efficacy of DXR. Conversely, the herbal extracts did not significantly impact the growth of tumors in mice treated with DXR. This implies that the extracts mitigate the toxic effects induced by DXR, without interfering with the therapeutic effects of doxorubicin. This result is crucial as it suggests that those herbal extracts can be utilized in combination with chemotherapy to reduce adverse effects without adversely affecting the anti-cancer properties of DXR.

3.4. Impact of herbal extracts with the nephroprotective activities on the oxidative stress index and antioxidant enzymes in mice given DXR

The TOS, TAC, and OSI values in the healthy mice (group H) were 1.139 ± 0.203 , 2.69 ± 0.54 , and 0.43 ± 0.08 , respectively, according to our findings. There was no apparent change in the levels of TOS and OSI in cancerous mice (group BC) compared to healthy mice, while there was a

drop in TAC. In comparison to untreated mice, healthy mice administered chemotherapy showed a substantial rise in TOS and OSI levels (6.47 ± 0.48 and 16.33 ± 6.93 , respectively), and a significant drop in TAC levels (0.42 ± 0.08). When compared to cancer mice that were not treated with chemotherapy, mice with cancer plus chemotherapy (BCD) had significantly higher levels of TOS and OSI (TOS: 7.81 ± 0.51 ; OSI: 26.72 ± 7.248), as well as a significantly lower level of TAC (0.307 ± 0.08). Groups BCDHH and BCDLH showed a significant increase in TAC levels with p-values of less than 0.01, compared to group BCD, while mice with cancer under DXR with 1% herbal treatment (BCDLH) showed a significant decrease in TOS and OSI, respectively, with p-values of less than 0.01, 0.05 and 0.01 and 0.001 for BCDHH group. The ability of the herb mixture to reduce oxidative stress in the kidneys of cancer mice treated with DXR showed no significant difference between the 1% and 2% doses (Figures 6 (A, B, C)).

The effects of the herbal extracts on kidney oxidant/antioxidant indicators in breast cancer mice treated with DXR were studied. DXR was administered to the breast cancer mice. Figures 7 (A, B, C) displays the glutathione peroxidase (GPX), superoxide dismutase (SOD), and catalase (CAT) levels, which are antioxidant enzymes. The levels of the CAT, GPX, and SOD enzymes in the healthy mice in group H were 68.93 ± 7.196 , 64.14 ± 10.73 , and 86.99 ± 10.26 , respectively. The SOD activity of cancer mice (group BC) was shown to be significantly lower (56.69 ± 8.045 , $p < 0.01$) in our investigation. Nevertheless, the development of cancer did not substantially impact the activities of CAT (60.09 ± 7.264) and GPX (59.12 ± 7.907) in comparison to healthy mice. The activities of CAT (25.11 ± 7.531 , $p < 0.0001$), GPX (19.17 ± 2.366 , $p < 0.0001$), and SOD (24.27 ± 6.042 , $p < 0.0001$) were noticeably reduced in healthy mice (group HD) that were treated with DXR compared to animals that were not treated. DXR and 1% herb combination treatment (group BCDLH) of mice that had cancer did not seem to have any effect on GPX, SOD, and CAT functions. The administration of 2% herbal extracts (group BCDHH) caused a very significant increase in CAT ($p < 0.01$) and SOD ($p < 0.05$); however, there was no change in GPX when compared to the BCD group.

The oxidative stress produced in this study by DXR is evidenced by increased OSI and decreased activity of catalase, glutathione peroxidase and superoxide dismutase of kidney. The 2% herbal combinations significantly improved the activities of these enzymes. This implies that the extracts can improve the kidney's antioxidant capacity and protect it from damage due to DXR. The administration of the extract, particularly at 2%, lowered TOS and OSI levels while raising TAC. This can be regarded as evidence that the extracts can prevent oxidative stress by enhancing the kidneys' antioxidant capacity and, thus, decreasing the harm from ROS. The extracts possess several antioxidant compounds such as flavonoids (catechins and quercetin) and polyphenols (gallic, chlorogenic and caffeic acids) as was shown by the HPLC analysis. These substances are capable of directly scavenging ROS and have been found to have strong free radical scavenging ability. For instance, gallic acid and tannic acid can provide hydrogen atoms to the free radicals, thereby preventing the further chain reactions, which lead to the generation of free radicals. Moreover, chlorogenic and caffeic acids may raise the levels and activity of endogenous antioxidants, including catalase and superoxide dismutase. This improves the ability of breaking down hydrogen peroxide and superoxide anions

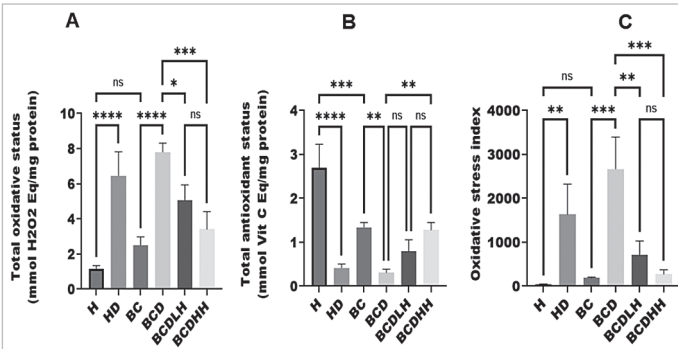


Figure 6. Effect of the green tea and moringa mixture on renal levels of total oxidative status (TOS) (A), total antioxidant capacity (TAC) (B) and oxidative stress index (OSI) (C) in the kidney of the doxorubicin (DXR)-treated mice with cancer.

Results are means $\pm$ SD. *, **, *** and **** represent the significant difference between different experimental groups at $p < 0.05$, $p < 0.01$, $p < 0.001$ and $p < 0.0001$, respectively. H: healthy group, HD: healthy group treated with DXR, BC: mice with breast cancer, BCD: DXR-treated mice with cancer, BCDLH: cancer mice treated with DXR and 1% herbal extract, BCDHH: cancer mice treated with DXR and 2% herbal extract

Рисунок 6. Влияние смеси зеленого чая и моринги на ренальные уровни общего окислительного статуса (TOS) (A), общей антиоксидантной способности (TAC) (B) и индекса окислительного стресса (OSI) (C) в почках получавших доксорубин (DXR) мышей с раком. Результаты являются средними значениями $\pm$ стандартные отклонения. *, **, *** и **** представляют значимые различия между разными экспериментальными группами при $p < 0,05$, $p < 0,01$, $p < 0,001$ и $p < 0,0001$, соответственно. H: здоровая группа, HD: здоровая группа, получавшая DXR, BC: мыши с раком молочной железы, получавшие DXR, BCDLH: мыши с раком молочной железы получавшие DXR и 1% травяного экстракта, BCDHH: мыши с раком молочной железы получавшие DXR и 2% травяного экстракта

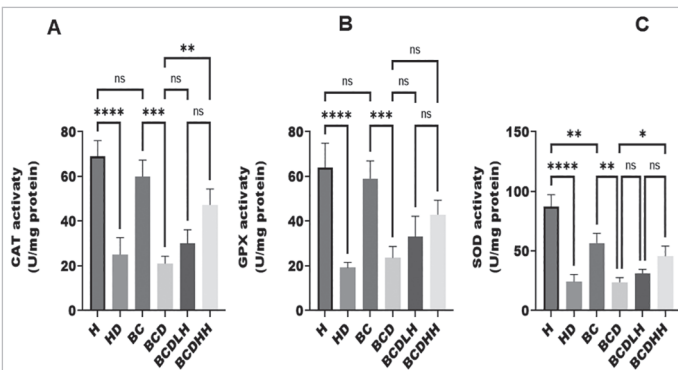


Figure 7. Effect of the green tea and moringa mixture on the activities of renal catalase (A), GPX (B) and SOD (C) in the kidney of doxorubicin (DXR)-treated mice with cancer. Results are means $\pm$ SD. *, **, *** and **** represent the significant difference between different experimental groups at $p < 0.05$, $p < 0.01$, $p < 0.001$ and $p < 0.0001$, respectively. H: healthy group, HD: healthy group treated with DXR, BC: mice with breast cancer, BCD: DXR-treated mice with cancer, BCDLH: cancer mice treated with DXR and 1% herbal extract, BCDHH: cancer mice treated with DXR and 2% herbal extract

Рисунок 7. Влияние смеси зеленого чая и моринги на активности ренальных каталазы (A), GPX (B) и SOD (C) в почках получавших доксорубин (DXR) мышей с раком. Результаты являются средними значениями $\pm$ стандартные отклонения. *, **, *** и **** представляют значимые различия между разными экспериментальными группами при $p < 0,05$, $p < 0,01$, $p < 0,001$ и $p < 0,0001$, соответственно. H: здоровая группа, HD: здоровая группа, получавшая DXR, BC: мыши с раком молочной железы, BCD: мыши с раком молочной железы получавшие DXR, BCDLH: мыши с раком молочной железы получавшие DXR и 1% травяного экстракта, BCDHH: мыши с раком молочной железы получавшие DXR и 2% травяного экстракта

3.5. Impact of nephroprotective herbal extracts on the proinflammatory cytokine production in DXR- treated mice

Our findings showed that in healthy mice (group H), the levels of renal IL-1 and TNF- α were 30.93 ± 3.77 pg/mg proteins and 26.16 ± 8.42 pg/mg proteins, respectively. When compared to healthy mice, cancer animals (group BC) showed no significant changes in the levels of IL-1 and TNF- α , with levels of 51.13 ± 9.106 pg/mg proteins and 46.46 ± 10.42 pg/mg proteins, respectively. After healthy mice were given DXR (group HD), levels of IL1 β and TNF- α were considerably higher than in the untreated animals (179.1 ± 33.02 pg/mg protein; $p < 0.0001$, 155.2 ± 29.45 pg/mg protein; $p < 0.0001$, respectively). Compared to the BC group, breast cancer mice in group BCD, who were administered DXR, displayed significantly higher levels of IL1 β (209.2 ± 17.04 pg/mg protein; $p < 0.0001$) and TNF- α (168.4 ± 10.99 pg/mg protein; $p < 0.0001$). Our findings showed that compared to the BCD group, mice with cancer and DXR who also received the 1% herbal mixture (group BCDLH) showed a significant reduction in both IL1 β (142.6 ± 17.31 pg/mg protein; $P < 0.01$) and TNF- α (116.9 ± 19.67 pg/mg protein; $P < 0.05$) levels. Moreover, in comparison to the BCD group, mice given the 2% herbal extract (group BCDHH) demonstrated a significant decrease in IL1 β (105.6 ± 13.31 pg/mg protein, $P < 0.001$) and TNF- α (80.83 ± 16.03 pg/mg protein, $P < 0.001$) levels, as shown in Figures 8 (A, B).

In our study, we were able to see that an increase in such factors as TNF- α and IL-1 in kidneys occurred in direct connection with the administration of DXR. All these inflammatory cytokines participate in the promotion of DXR-induced nephrotoxicity. The results predicate that these herbal extracts can be used as anti-inflammatory drugs as they effectively reduced the cytokines at 1% and 2% concentrations. Being an effective pro-inflammatory cytokine, IL-1 β plays a role in inflammation and kidney damage. In response to this, signaling pathways are stimulated, leading to the synthesis of various inflammatory agents and enzymes, such as cyclooxygenase and nitric oxide synthase, which may further aggravate tissue damage [51,52]. Interleukin-1 (IL-1) induces apoptosis in kidney cells, raises production of pro-inflammatory cytokines and recruits inflammatory cells into renal tissue. This cytokine stimulates renal fibroblast cells to synthesize the extracellular matrix that enhances the scarring process and impairs renal function; it is also a factor in the progression of renal fibrosis [53].

One important cytokine linked to renal inflammation and damage is TNF- α . TNF- α binds to certain receptors in the kidney and other renal

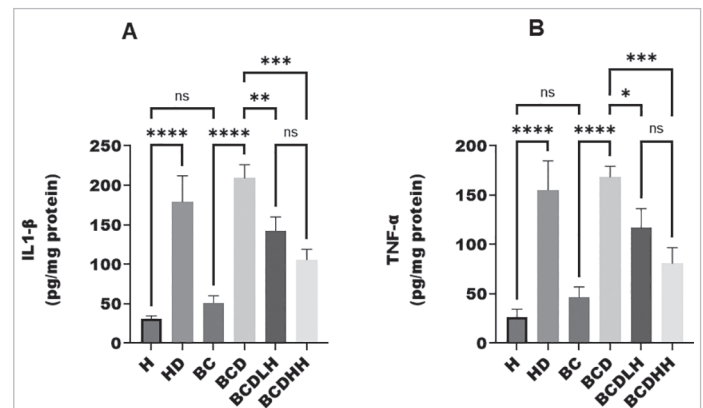


Figure 8. Effect of the green tea and moringa mixture on renal levels of IL1 β (A) and TNF- α (B) in the kidney of doxorubicin (DXR)-treated mice with cancer. Results are means $\pm$ SD. *, **, *** and **** represent the significant difference between different experimental groups at $p < 0.05$, $p < 0.01$, $p < 0.001$ and $p < 0.0001$, respectively. H: healthy group, HD: healthy group treated with DXR, BC: mice with breast cancer, BCD: DXR-treated mice with cancer, BCDLH: cancer mice treated with DXR and 1% herbal extract, BCDHH: cancer mice treated with DXR and 2% herbal extract

Рисунок 8. Влияние смеси зеленого чая и моринги на ренальные уровни IL1 β (A) и TNF- α (B) в почках получавших доксорубин (DXR) мышей с раком. Результаты являются средними значениями $\pm$ стандартные отклонения. *, **, *** и **** представляют значимые различия между разными экспериментальными группами при $p < 0,05$, $p < 0,01$, $p < 0,001$ и $p < 0,0001$, соответственно. H: здоровая группа, HD: здоровая группа, получавшая DXR, BC: мыши с раком молочной железы, BCD: мыши с раком молочной железы получавшие DXR, BCDLH: мыши с раком молочной железы получавшие DXR и 1% травяного экстракта, BCDHH: мыши с раком молочной железы получавшие DXR и 2% травяного экстракта

into less toxic products, thus decreasing oxidative stress [47,48,49,50]. Therefore, it can be deduced from the findings of this study that these bioactive compounds in combination with herbs aid in the restoration of the antioxidant defense system in the kidney through a dose-dependent manner to counter the effects of DOX-induced oxidative stress.

cells, starting a cascade of internal reactions that might result in necrosis or apoptosis, two possible forms of cell death. TNF- α stimulates the production of ROS, leading to oxidative stress and cell damage. According to Kastl et al. [54], it also leads to fibrosis and cirrhosis by disrupting the amounts of cytokines that are normally anti-inflammatory and pro-inflammatory. Combining the moringa extract with green tea is thought to provide anti-inflammatory properties since both plants contain bioactive chemicals including antioxidants and flavonoids. Pro-inflammatory cytokine expression and activity have been shown to be inhibited by these substances [55]. Park et al. [56] and Wang et al. [57] stated that compounds found in green tea, such as quercetin and catechins, inhibit the pro-inflammatory gene activity (such as NF- κ B) by obstructing crucial signaling pathways.

This is consistent with the hypothesis that green tea possesses anti-inflammatory properties. In addition, studies by Hamza [58] and Abd-Elnaby et al. [59] indicate that bioactive components of moringa, including moringin and other polyphenols, might reduce inflammation by preventing the generation of TNF- α and IL-1. These bioactive compounds do this by lowering the production of inflammatory cytokines and chemokines by preventing the activation of inflammatory cells such as macrophages. These findings highlight the preventative role of our herbal combination in minimizing kidney damage induced by DXR by lowering the production of inflammatory cytokines.

3.6. Impact of herbal extracts on the expression levels of BAX and BCL2 genes and of NLRP3 and NFKB genes

Bax and Bcl2 gene expression levels in various experimental groups are shown in Figure 9 (A, B). While we found no statistically significant variations in BAX expression levels between healthy and malignant animals, we did find a statistically significant rise in BCL2 expression levels in the kidneys of both groups. In comparison to the untreated mice, there was a significant increase in Bax expression ($P < 0.0001$ for the HD group; $P < 0.001$ for the BCD group) and a significant decrease in BCL2 expres-

sion ($P < 0.0001$ for the HD group; $P < 0.01$ for BCD group) after the DXR administration to both healthy (group HD) and cancerous (group BCD) mice. A significant decrease in Bax expression ($P < 0.01$) and a significant increase in Bcl2 gene expression ($P < 0.05$) were seen in malignant mice treated with DXR and 1% herb extract (group BCDLH) compared to the BCD group, which did not receive herb therapy. The expression of the BAX ($p < 0.01$) and BCL2 ($p < 0.001$) genes in the kidney of the BCDHH group was found to be similar to that of the BCDLH group compared to the group that did not receive herb extract therapy.

Figure 10 (A, B) displays the renal expression of NLRP3 and NFKB in different experimental groups. In the breast cancer groups of mice, there was a significant rise in NLRP3 ($P < 0.05$), but in comparison with the healthy control group, there was no apparent effect on NFKB expression. The levels of NLRP3 expression were not affected by the administration of DXR to either the healthy (group HD) or cancer (group BCD) mice, although they were shown to be higher in the BCD group ($P < 0.001$) when compared to the untreated group. Obviously, in contrast to the control group, both the HD group and the BCD group exhibited elevated NFKB gene levels ($P < 0.01$ for the HD group and $P < 0.0001$ for the BCD group). In comparison to the BCD group, malignant mice given 1% herb extract exhibited significantly reduced amounts of NLRP3 and NFKB ($P < 0.05$ and $P < 0.0001$, respectively). Furthermore, group BCDHH, which received 2% herbal extract, showed a significant decrease in NLRP3 ($P < 0.01$) and NFKB ($P < 0.0001$) in comparison to BCD. Regardless of the dose, there was no significant difference in the NLRP3 and NFKB expression levels between the BCDLH and BCDHH groups.

The activities of BAX and BCL2 were noticeably changed by DXR treatment. DXR increased apoptosis by lowering BCL2 levels and upregulating BAX, two genes that normally work together to prevent cell death. The expressions of the genes were altered by the herbal extracts; an upregulation of BCL2 and a downregulation of BAX were seen, indicating that the extracts help prevent cell death. Further, the extracts significantly reduced the expression of the inflammatory response-related genes that

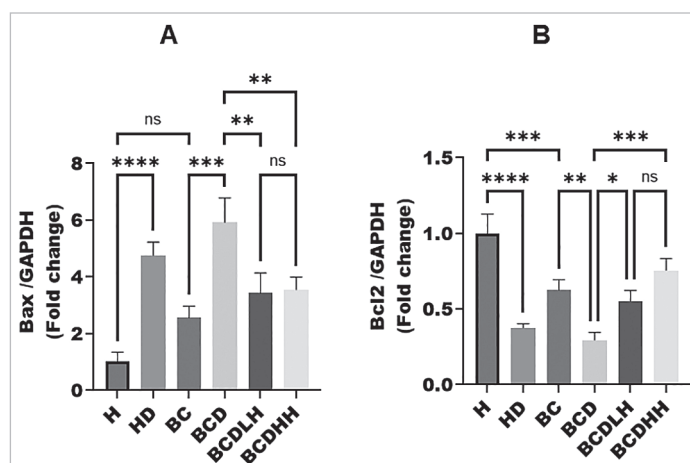


Figure 9. Effect of the green tea and moringa mixture on expression levels of BAX (A) and BCL2 (B) genes in the kidney of doxorubicin (DXR)-treated mice with cancer. GAPDH was used as a housekeeping gene. Relative quantification was performed according to the comparative $2^{-\Delta\Delta Ct}$ method. Each reaction was run in triplicate. Results are means $\pm$ SD. *, **, *** and **** represent the significant difference between different experimental groups at $p < 0.05$, $p < 0.01$, $p < 0.001$ and $p < 0.0001$, respectively. H: healthy group, HD: healthy group treated with DXR, BC: mice with breast cancer, BCD: DXR-treated mice with cancer, BCDLH: cancer mice treated with DXR and 1% herbal extract, BCDHH: cancer mice treated with DXR and 2% herbal extract

Рисунок 9. Влияние смеси зеленого чая и моринги на уровни экспрессии генов BAX (A) и BCL2 (B) в почках получавших доксорубин (DXR) мышей с раком. GAPDH был использован в качестве гена домашнего хозяйства. Определение относительного количества было проведено в соответствии со сравнительным $2^{-\Delta\Delta Ct}$ методом. Каждая реакция была проведена в трехкратной повторности. Результаты являются средними значениями $\pm$ стандартные отклонения. *, **, *** и **** представляют значимые различия между разными экспериментальными группами при $p < 0,05$, $p < 0,01$, $p < 0,001$ и $p < 0,0001$, соответственно. H: здоровая группа, HD: здоровая группа, получавшая DXR, BC: мыши с раком молочной железы, BCD: мыши с раком молочной железы получавшие DXR, BCDLH: мыши с раком молочной железы получавшие DXR и 1% травяного экстракта, BCDHH: мыши с раком молочной железы получавшие DXR и 2% травяного экстракта

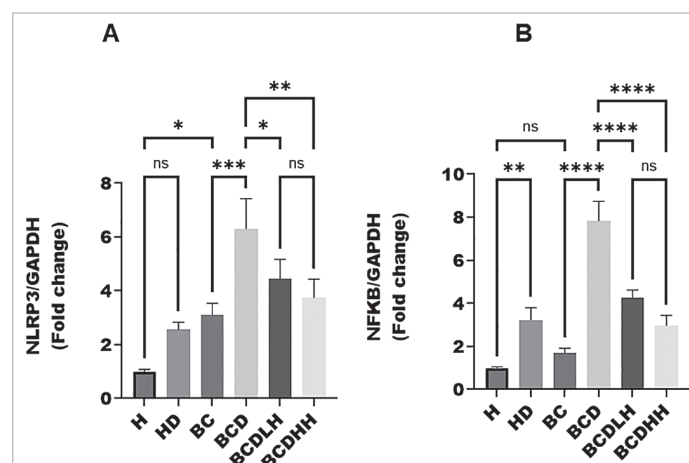


Figure 10. Effect of the green tea and moringa mixture on expression levels of NLRP3 (A) and NFKB (B) genes in the kidney of doxorubicin (DXR)-treated mice with cancer. GAPDH was used as a housekeeping gene. Relative quantification was performed according to the comparative $2^{-\Delta\Delta Ct}$ method. Each reaction was run in triplicate. Results are means $\pm$ SD. *, **, *** and **** represent the significant difference between different experimental groups at $p < 0.05$, $p < 0.01$, $p < 0.001$ and $p < 0.0001$, respectively. H: healthy group, HD: healthy group treated with DXR, BC: mice with breast cancer, BCD: DXR-treated mice with cancer, BCDLH: cancer mice treated with DXR and 1% herbal extract, BCDHH: cancer mice treated with DXR and 2% herbal extract

Рисунок 10. Влияние смеси зеленого чая и моринги на уровни экспрессии генов NLRP3 (A) и NFKB (B) в почках получавших доксорубин (DXR) мышей с раком. GAPDH был использован в качестве гена домашнего хозяйства. Определение относительного количества было проведено в соответствии со сравнительным $2^{-\Delta\Delta Ct}$ методом. Каждая реакция была проведена в трехкратной повторности. Результаты являются средними значениями $\pm$ стандартные отклонения. *, **, *** и **** представляют значимые различия между разными экспериментальными группами при $p < 0,05$, $p < 0,01$, $p < 0,001$ и $p < 0,0001$, соответственно. H: здоровая группа, HD: здоровая группа, получавшая DXR, BC: мыши с раком молочной железы, BCD: мыши с раком молочной железы получавшие DXR, BCDLH: мыши с раком молочной железы получавшие DXR и 1% травяного экстракта, BCDHH: мыши с раком молочной железы получавшие DXR и 2% травяного экстракта

promote inflammation NLRP3 and NF- κ B. This shows that the extracts' inflammatory and apoptotic control contributes to their nephroprotective effects. Research studies have clarified various types of useful compounds in green tea, including polyphenols, like epicatechin, kaempferol, epicatechin gallate (ECG), and epicatechin (EC).

Research indicates that epigallocatechin gallate (EGCG) and kaempferol may prevent NF- κ B from activating and the NLRP3 inflammasome from developing. Consequently, they may decrease the production of pro-inflammatory cytokines and relieve inflammation [59,60]. Furthermore, EGCG has the ability to control the activity of BAX and BCL2, resulting in improved cell survival and decreased apoptosis [61,62]. In addition, moringa contains a substantial quantity of bioactive compounds such as flavonoids, phenolic acids, and glucosinolates. Abdel Fattah et al. [64] reported that these substances have potent antioxidant and anti-inflammatory properties. Quercetin, a flavonoid abundant in moringa, has shown the ability to inhibit the activation of pro-inflammatory genes by decreasing the NF- κ B signalling pathway. Moreover, research has shown that quercetin may regulate the mechanism of cellular apoptosis by modulating the expression of BAX and BCL2, hence preventing cell death [65].

tosis by modulating the expression of BAX and BCL2, hence preventing cell death [65].

3.7. Histopathological findings

The histopathological changes in the renal cortex of mice receiving different treatments were examined in this study (Figure 11 (A, B)). Morphologically, the kidneys of group A, the healthy control mice, had intact structures of the distal convoluted tubules, proximal convoluted tubules, and glomeruli. Group B with breast cancer mice did not differ significantly from the healthy control group, which indicates that the breast cancer condition did not affect kidney histology at this stage. On the other hand, group C, which was the healthy mice treated with doxorubicin, had renal damage evidence. This was evidenced by mild cell swelling, glomerular atrophy and degeneration, and extensive necrosis, suggesting doxorubicin nephrotoxicity. The same observation was made in group D consisted of mice treated with doxorubicin and having breast cancer, which indicates that the presence of breast cancer did not decrease the nephrotoxicity of doxorubicin (Figure 11 (C, D)). The treatment groups E and F (Figure 11 (E, F)),

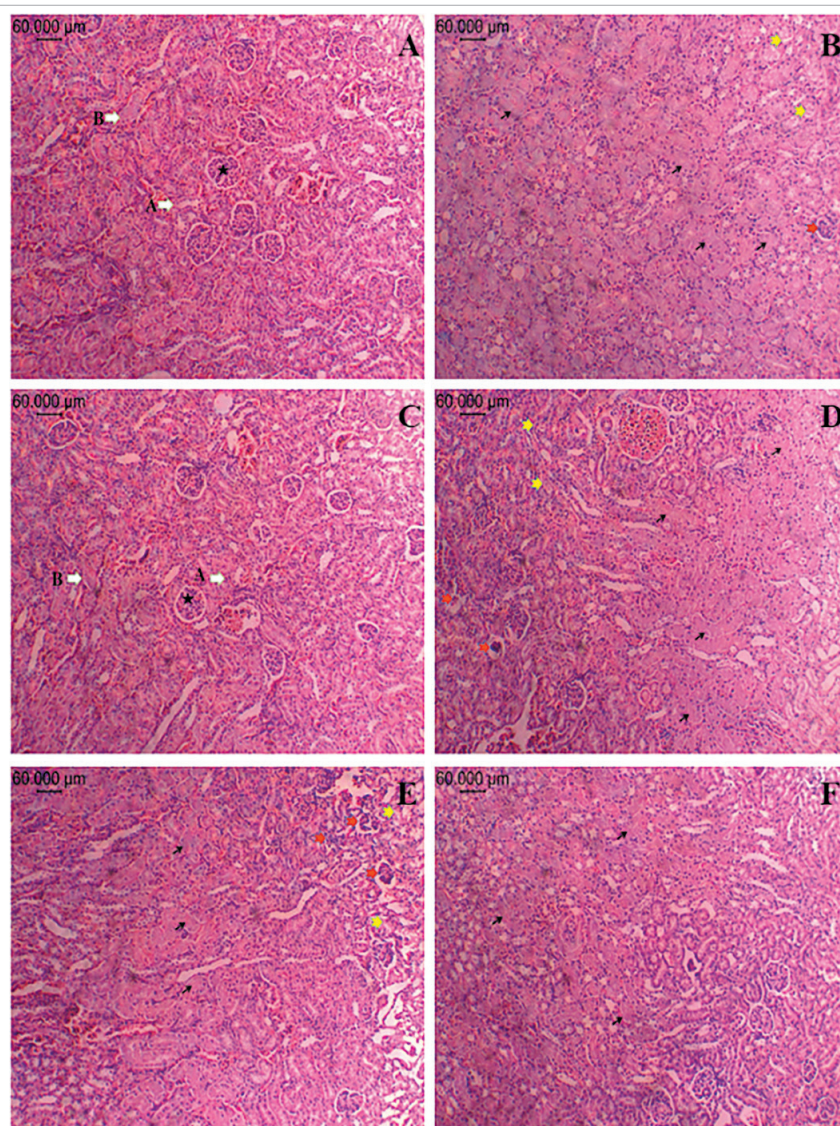


Figure 11. Histopathological examination of mouse kidney (H&E staining, magnification 10X) in different experimental groups. Control group (H) and BC group (A, B): kidney cells show normal structure of distal convoluted (arrow A), the proximal convoluted tubule (arrow B), and the glomerulus (star sign) in the control group. HD (C) and BCD (D) groups: mild cell swelling (yellow arrows), glomerular atrophy and degeneration (red arrow), and extensive necrosis (black arrow). BCDLH group (E): mild cell swelling (yellow arrows), glomerular atrophy and degeneration (red arrow), and extensive necrosis (black arrow). BCDHH group (F): shows necrosis (black arrow). Control group (H); tumor group (BC); control + DXR group (HD); tumor + DXR group (BCD); tumor + DXR + low dose of herb mixture (BCDLH); tumor + DXR + high dose of herb mixture (BCDHH)

Рисунок 11. Гистопатологическое исследование почек мышей (окраска гематоксилином и эозином, увеличение 10X) в различных экспериментальных группах. Контрольная группа (H) и группа BC (A, B): клетки почки показали нормальную структуру дистального извитого (стрелка A), проксимального извитого канальца (стрелка B), и клубочка (звездочка) в контрольной группе. Группы HD (C) и BCD (D): умеренное набухание клеток (желтые стрелки), атрофия и дегенерация клубочков (красная стрелка) и обширный некроз (черная стрелка). Группа BCDLH (E): умеренное набухание клеток (желтые стрелки), атрофия и дегенерация клубочков (красная стрелка) и обширный некроз (черная стрелка). Группа BCDHH (F): показывает некроз (черная стрелка). Контрольная группа (H); группа с опухолью (BC); группа контроль + DXR (HD); группа с опухолью + DXR (BCD); группа с опухолью + DXR + низкая доза травяной смеси (BCDLH); группа с опухолью + DXR + высокая доза травяной смеси (BCDHH)

administered doxorubicin in combination with the herb extract at concentrations of 1% and 2%, respectively, showed some protection against doxorubicin-induced renal damage. Group E had mild cell swelling, glomerular atrophy, and necrosis, suggesting some protection. Group F showed only necrosis, which may indicate that the 2% concentration of the herbs extract was more effective in the prevention of renal damage than the 1% concentration. Based on the findings of this study, it can be concluded that while doxorubicin results in severe renal toxicity, the addition of the herb extract may help in minimizing the degree of nephrotoxicity.

4. Conclusion

In conclusion, the green tea and moringa combination extracts show a significant protective effect against doxorubicin-induced renal toxicity due to their antioxidant, anti-inflammatory, and anti-apoptotic properties through the coordinated suppression of multiple molecular pathways involved in the nephrotoxicity. The combination of green tea and moringa can therefore be recommended as an adjuvant for the management of hepatotoxicity resulting from chemotherapy drugs.

REFERENCES

- Islamuddin, M., Qin, X. (2024). Renal macrophages and NLRP3 inflammasomes in kidney diseases and therapeutics. *Cell Death Discovery*, 10(1), Article 229. <https://doi.org/10.1038/s41420-024-01996-3>
- Kubat, G. B., Özler, M., Ülger, O., Ekinci, Ö., Atalay, Ö., Çelik, E. et al. (2020). The effects of mesenchymal stem cell mitochondrial transplantation on doxorubicin-mediated nephrotoxicity in rats. *Journal of Biochemical and Molecular Toxicology*, 35(1), Article e22612. <https://doi.org/10.1002/jbt.22612>
- Charles, I. J., Okayo, O. D. (2021). Prevention of doxorubicin-induced renal function abnormalities by turmeric in Wistar rats. *GSC Biological and Pharmaceutical Sciences*, 14(3), 143–156. <https://doi.org/10.30574/gscbps.2021.14.3.0070>
- Peter, S., Alven, S., Maseko, R. B., Aderibigbe, B. A. (2022). Doxorubicin-based hybrid compounds as potential anticancer agents: A review. *Molecules*, 27(14), Article 4478. <https://doi.org/10.3390/molecules27144478>
- Angela, I. F. D., Dalimunthe, A., Harahap, U., Satria, D. (2023). Effect of andaliman (*Zanthoxylum acanthopodium* DC.) ethanol extract on doxorubicin-induced toxicity on hematology in male rats. *Journal of Drug Delivery and Therapeutics*, 13(3), 27–29. <https://doi.org/10.22270/jddt.v13i3.5975>
- Amarasiri, S. S., Attanayake, A. P., Arawawala, L. D. A. M., Jayatilaka, K. A. P. W., Muduwa, L. K. B. (2021). Nephroprotective activity of *Vetiveria zizanioides* (L.) Nash supplement in doxorubicin-induced nephrotoxicity model of Wistar rats. *Journal of Food Biochemistry*, 45(9), Article e13901. <https://doi.org/10.1111/jfbc.13901>
- Furcea, D. M., Agrigoroaie, L., Mihai, C.-T., Gardikiotis, I., Dodi, G., Stanciu, G. D. et al. (2022). 18F-FDG PET/MRI imaging in a preclinical rat model of cardiorenal syndrome – an exploratory study. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(23), Article 15409. <https://doi.org/10.3390/ijms232315409>
- Teibo, J., Bello, S., Olagunju, A., Olorunfemi, F., Ajao, O., Fabunmi, O. (2020). Functional foods and bioactive compounds: Roles in the prevention, treatment and management of neurodegenerative diseases. *GSC Biological and Pharmaceutical Sciences*, 11(2), 297–313. <https://doi.org/10.30574/gscbps.2020.11.2.0143>
- Anyene, I. C., Ergas, I. J., Kwan, M. L., Roh, J. M., Ambrosone, C. B., Kushi, L. H. et al. (2021). Plant-based dietary patterns and breast cancer recurrence and survival in the pathways study. *Nutrients*, 13(10), Article 3374. <https://doi.org/10.3390/nut13103374>
- Al-Temimi, W. K. A., Al-Garory, N. H. S., Khalaf, A. A. (2020). Diagnose the bioactive compounds in flaxseed extract and its oil and use their mixture as an antioxidant. *Basrah Journal of Agricultural Sciences*, 33(1), 172–188. <https://doi.org/10.37077/25200860.2020.33.1.13>
- Hussain, M. A., Abogresha, N. M., Kader, G. A., Hassan, R., Abdelaziz, E. Z., Greish, S. M. (2021). Antioxidant and anti-inflammatory effects of crocin ameliorate doxorubicin-induced nephrotoxicity in rats. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2021(1), Article 8841726. <https://doi.org/10.1155/2021/8841726>
- Owumi, S. E., Lewu, D. O., Arunsi, U. O., Oyeleru, A. K. (2021). Luteolin attenuates doxorubicin-induced derangements of liver and kidney by reducing oxidative and inflammatory stress to suppress apoptosis. *Human and Experimental Toxicology*, 40(10), 1656–1672. <https://doi.org/10.1177/09603271211006171>
- Shi, H., Zhao, X., Peng, Q., Zhou, X., Liu, S., Sun, C. et al. (2023). Green tea polyphenols alleviate kidney injury induced by Di(2-ethylhexyl) phthalate in mice. *American Journal of Nephrology*, 55(1), 86–105. <https://doi.org/10.1159/000534106>
- Arabzadeh, E., Norouzi Kamareh, M., Ramirez-Campillo, R., Mirnejad, R., Masti, Y., Shirvani, H. (2022). Twelve weeks of treadmill exercise training with green tea extract reduces myocardial oxidative stress and alleviates cardiomyocyte apoptosis in aging rat: The emerging role of bnip3 and HIF-1α/IGFBP3 pathway. *Journal of Food Biochemistry*, 46(12), Article e14397. <https://doi.org/10.1111/jfbc.14397>
- Nishat, R. J., Halim, M. R., Islam, M. M., Hamid, T., Ahmed, K. N., Hasan, R. et al. (2022). Effect of green tea on gentamicin induced nephrotoxicity in Long Evans male rats. *Bangladesh Critical Care Journal*, 10(2), 127–134. <https://doi.org/10.3329/bccj.v10i2.62206>
- Adeoye, S. W. A., Adeshina, O. S., Yusuf, M. G., Omole, A. (2022). Hepatoprotective and renoprotective effect of Moringa oleifera seed oil on dichlorvos-induced toxicity in male Wistar rats. *Nigerian Journal of Physiological Sciences*, 37(1), 119–126. <https://doi.org/10.54548/njps.v37i1.15>
- Putri, I. S., Siwi, G. N., Budiani, D. R., Rezki, B. E. (2023). Protective effect of moringa seed extract on kidney damage in rats fed a high-fat and high-fructose diet. *Journal of Taibah University Medical Sciences*, 18(6), 1545–1552. <https://doi.org/10.1016/j.jtumed.2023.07.001>
- Lukiswanto, B. S., Wijayanti, H., Fadhlia, Y. N., Yuniarti, W. M., Arimbi, A., Suprihati, E. et al. (2022). Protective effect of Moringa oleifera leaves extract against gentamicin induced hepatic and nephrotoxicity in rats. *Iraqi Journal of Veterinary Sciences*, 37(1), 129–135. <https://doi.org/10.33899/ijvs.2022.133276.2197>
- Elsayed, F. I., Elgendey, F., Waheed, R. M., El-Shemy, M. A. (2021). Protective effect of moringa oleifera seed extract on cisplatin induced nephrotoxicity in rats. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 13(5), 78–82. <https://doi.org/10.22159/ijpps.2021v13i5.41125>
- Sebastian, D., Shankar, K. G., Ignacimuthu, S., Fleming, A. T., Sebastian, D. (2019). Detection of synergistic effect of three plant extracts against pathogenic bacteria. *International Journal of Research and Analytical Reviews*, 6(2), 438–449.
- Wang, Y., Yang, H., Chen, L., Jafari, M., Tang, J. (2021). Network-based modeling of herb combinations in traditional Chinese medicine. *Briefings in Bioinformatics*, 22(5), Article bbab106. <https://doi.org/10.1093/bib/bbab106>
- Sojoodi, M., Wei, L., Erstad, D. J., Yamada, S., Fujii, T., Hirschfield, H. et al. (2020). Epigallocatechin gallate induces hepatic stellate cell senescence and attenuates development of hepatocellular carcinoma. *Cancer Prevention Research*, 13(6), 497–508. <https://doi.org/10.1158/1940-6207.capr-19-0383>
- Wu, Z., Sun, L., Chen, R., Wen, S., Li, Q., Lai, X. et al. (2022). Chinese tea alleviates CCl₄-induced liver injury through the nf-κb/nrf2 signaling pathway in C57BL-6J mice. *Nutrients*, 14(5), Article 972. <https://doi.org/10.3390/nut14050972>
- Shubhangini, C., Jaiganesh, R., Rajeshkumar, S. (2023). Green synthesis of zinc oxide nanoparticles using chamomile and green tea extracts and evaluation of their anti-inflammatory and antioxidant activity: An in vitro study. *Cureus*, 15(9), Article e46088. <https://doi.org/10.7759/cureus.46088>
- Zhang, Y., Qu, X., Gao, H., Zhai, J., Tao, L., Sun, J. et al. (2020). Quercetin attenuates NLRP3 inflammasome activation and apoptosis to protect INH-induced liver injury via regulating SIRT1 pathway. *International Immunopharmacology*, 85, Article 106634. <https://doi.org/10.1016/j.intimp.2020.106634>
- Feng, T., Wan, Y., Dai, B., Liu, Y. (2023). Anticancer activity of bitter melon-derived vesicles extract against breast cancer. *Cells*, 12(6), Article 824. <https://doi.org/10.3390/cells12060824>
- Shao, M., Kuang, Z., Wang, W., Li, S., Li, G., Song, Y. et al. (2022). Aucubin exerts anticancer activity in breast cancer and regulates intestinal microbiota. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2022, Article 4534411. <https://doi.org/10.1155/2022/4534411>
- Mradu, G., Saumyakanti, S., Sohini, M., Arup, M. (2012). HPLC profiles of standard phenolic compounds present in medicinal plants. *International Journal of Pharmacognosy and Phytochemical Research*, 4(3), 162–167.
- Kumar, K. P., Reddy, V. R., Prakash, M. G., Kumar, K. P. (2018). In vitro estimation of total phenolics and DPPH radical scavenging activity of *Withania somnifera* extract. *The Pharma Innovation Journal*, 7(3), 588–590.
- Pandey, B., Rajbhandari, M. (2014). Estimation of total phenolic and flavonoid contents in some medicinal plants and their antioxidant activities. *Nepal Journal of Science and Technology*, 15(1), 53–60. <http://doi.org/10.3126/njst.v15i1.12010>
- Phuyal, N., Jha, P. K., Raturi, P. P., Rajbhandary, S. (2020). Total phenolic, flavonoid contents, and antioxidant activities of fruit, seed, and bark extracts of *Zanthoxylum armatum* DC. *The Scientific World Journal*, 2020(1), Article 8780704. <https://doi.org/10.1155/2020/8780704>
- Védékoi, J., Selestin, S. D., Abdoulaye, H., Justin, K., Djamilah, Z., Pierre, K. (2019). Investigation of antioxidant activity of the ethanol extract of the resin exudates of trunk bark of *Boswellia dalzielii* Hutch (Burseraceae). *Journal of Materials and Environmental Sciences*, 10(12), 1413–1419.
- Gulcin, I., Alwasel, S. H. (2022). Metal ions, metal chelators and metal chelating assay as antioxidant method. *Processes*, 10(1), Article 132. <https://doi.org/10.3390/pr10010132>
- Rajaratnam, H., Rasudin, N. S., Safuan, S., Abdullah, N. A., Mokhtar, N. F., Fuad, W. E. M. (2022). Passage number of 4T1 cells influences the development of tumour and the progression of metastasis in 4T1 orthotopic mice. *The Malaysian Journal of Medical Sciences*, 29(3), 30–42. <https://doi.org/10.21315/mjms2022.29.3.4>
- Sauter, B. V., Martinet, O., Zhang, W. -J., Mandeli, J., Woo, S. L. C. (2000). Adenovirus-mediated gene transfer of endostatin in vivo results in high level of transgene expression and inhibition of tumor growth and metastases. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 97(9), 4802–4807. <https://doi.org/10.1073/pnas.090065597>
- Zeiss, C. J., Gatti, D. M., Toro-Salazar, O., Davis, C., Lutz, C. M., Spinale, F. et al. (2019). Doxorubicin-induced cardiotoxicity in collaborative cross (CC) mice recapitulates individual cardiotoxicity in humans. *G3 Genes/Genomes/Genetics*, 9(8), 2637–2646. <https://doi.org/10.1534/g3.119.400232>
- Amiri, R., Tabandeh, M. R., Hosseini, S. A. (2021). Novel cardioprotective effect of L-carnitine on obese diabetic mice: Regulation of chemerin and CMKLR1 expression in heart and adipose tissues. *Arquivos Brasileiros de Cardiologia*, 117(4), 715–725. <https://doi.org/10.36660/abc.20200044>
- Erel, O. (2005). A new automated colorimetric method for measuring total oxidant status. *Clinical Biochemistry*, 38(12), 1103–1111. <https://doi.org/10.1016/j.clinbiochem.2005.08.008>
- Benzie, I. F., Strain, J. J. (1999). Ferric reducing/antioxidant power assay: Direct measure of total antioxidant activity of biological fluids and modified version for simultaneous measurement of total antioxidant power and ascorbic acid concentration. Chapter in a book: *Methods in Enzymology*. Academic press, 1999. [https://doi.org/10.1016/S0076-6879\(99\)90005-5](https://doi.org/10.1016/S0076-6879(99)90005-5)

40. Tabandeh, M. R., Jozaie, S., Ghotbedin, Z., Gorani, S. (2022). Dimethyl itaconic acid improves viability and steroidogenesis and suppresses cytokine production in LPS-treated bovine ovarian granulosa cells by regulating TLR4/nfκB, NLRP3, JNK signaling pathways. *Research in Veterinary Science*, 152, 89–98. <https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2022.07.024>
41. Namal Senanayake, S. P. J. (2013). Green tea extract: Chemistry, antioxidant properties and food applications — A review. *Journal of Functional Foods*, 5(4), 1529–1541. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2013.08.011>
42. Musial, C., Kuban-Jankowska, A., Gorska-Ponikowska, M. (2020). Beneficial properties of green tea catechins. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(5), Article 1744. <https://doi.org/10.3390/ijms21051744>
43. Pēkal, A., Drózd, P., Biesaga, M., Pyrzynska, K. (2012). Screening of the antioxidant properties and polyphenol composition of aromatised green tea infusions. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 92(11), 2244–2249.
44. Lorenzo, J. M., Munekata, P. E. S. (2016). Phenolic compounds of green tea: Health benefits and technological application in food. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 6(8), 709–719. <https://doi.org/10.1016/j.apjtb.2016.06.010>
45. Peñalver, R., Martínez-Zamora, L., Lorenzo, J. M., Ros, G., Nieto, G. (2022). Nutritional and antioxidant properties of Moringa oleifera leaves in functional foods. *Foods*, 11(8), Article 1107. <https://doi.org/10.3390/foods11081107>
46. Ntshambiwa, K. T., Seifu, E., Mokhawa, G. (2023). Nutritional composition, bioactive components and antioxidant activity of Moringa stenopetala and Moringa oleifera leaves grown in Gaborone, Botswana. *Food Production, Processing and Nutrition*, 5(1), Article 7. <https://doi.org/10.1186/s43014-022-00124-x>
47. Sreelatha, S., Padma, P. R. (2009). Antioxidant activity and total phenolic content of Moringa oleifera leaves in two stages of maturity. *Plant Foods for Human Nutrition*, 64(4), 303–311. <https://doi.org/10.1007/s11130-009-0141-0>
48. Na, H.-K., Surh, Y.-J. (2008). Modulation of Nrf2-mediated antioxidant and detoxifying enzyme induction by the green tea polyphenol EGCG. *Food and Chemical Toxicology*, 46(4), 1271–1278. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2007.10.006>
49. Mostafa-Hedeab, G., Hassan, M. E., Halawa, T. F., Wani, F. A. (2022). Epigallocatechin gallate ameliorates tetrahydrochloride-induced liver toxicity in rats via inhibition of TGFβ/p-ERK/p-Smad1/2 signaling, antioxidant, anti-inflammatory activity. *Saudi Pharmaceutical Journal*, 30(9), 1293–1300. <https://doi.org/10.1016/j.jsps.2022.06.021>
50. Lang, Y., Gao, N., Zang, Z., Meng, X., Lin, Y., Yang, S. et al. (2024). Classification and antioxidant assays of polyphenols: A review. *Journal of Future Foods*, 4(3), 193–204. <https://doi.org/10.1016/j.jfutfo.2023.07.002>
51. Patintingan, C. G., Louisa, M., Juniantito, V., Arozal, W., Hanifah, S., Wanandi, S. I. et al. (2023). Moringa oleifera leaves extract ameliorates doxorubicin-induced cardiotoxicity via its mitochondrial biogenesis modulatory activity in rats. *Journal of Experimental Pharmacology*, 15, 307–319. <https://doi.org/10.2147/jep.s413256>
52. Lee, E.-H., Park, H.-J., Kim, B.-O., Choi, H.-W., Park, K.-I., Kang, I.-K. et al. (2020). Anti-inflammatory effect of Malus domestica cv. green ball apple peel extract on Raw 264.7 macrophages. *Journal of Applied Biological Chemistry*, 63(2), 117–123. <https://doi.org/10.3839/jabc.2020.016>
53. Heo, Y. J., Lee, N., Choi, S.-E., Jeon, J. Y., Han, S. J., Kim, D. J. et al. (2023). Amphiregulin induces iNOS and COX-2 expression through NF-κB and MAPK signaling in hepatic inflammation. *Mediators of Inflammation*, 2023, 1–11. <https://doi.org/10.1155/2023/2364121>
54. Kastl, L., Sauer, S. W., Ruppert, T., Beissbarth, T., Becker, M. S., Süß, D. et al. (2014). TNF-α mediates mitochondrial uncoupling and enhances ROS-dependent cell migration via NF-κB activation in liver cells. *FEBS Letters*, 588(1), 175–183. <https://doi.org/10.1016/j.febslet.2013.11.033>
55. Singh, A., Yau, Y. F., Leung, K. S., El-Nezami, H., Lee, J. C.-Y. (2020). Interaction of polyphenols as antioxidant and anti-inflammatory compounds in brain–liver–gut axis. *Antioxidants*, 9(8), Article 669. <https://doi.org/10.3390/antiox9080669>
56. Park, H. J., Lee, J.-Y., Chung, M.-Y., Park, Y.-K., Bower, A. M., Koo, S. I. et al. (2012). Green tea extract suppresses NFκB activation and inflammatory responses in diet-induced obese rats with nonalcoholic steatohepatitis. *The Journal of Nutrition*, 142(1), 57–63. <https://doi.org/10.3945/jn.111.148544>
57. Wang, Z., Sun, W., Sun, X., Wang, Y., Zhou, M. (2020). Kaempferol ameliorates Cisplatin induced nephrotoxicity by modulating oxidative stress, inflammation and apoptosis via ERK and NF-κB pathways. *AMB Express*, 10(1), Article 58. <https://doi.org/10.1186/s13568-020-00993-w>
58. Hamza, A. A. (2010). Ameliorative effects of Moringa oleifera Lam seed extract on liver fibrosis in rats. *Food and Chemical Toxicology*, 48(1), 345–355. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2009.10.022>
59. Abd-Elnaby, Y. A., ElSayed, I. E., AbdEldaim, M. A., Badr, E. A., Abdelhafez, M. M., Elmadbouh, I. (2022). Anti-inflammatory and antioxidant effect of moringa oleifera against bisphenol-a-induced hepatotoxicity. *Egyptian Liver Journal*, 12(1), Article 57. <https://doi.org/10.1186/s43066-022-00219-7>
60. Wang, Y., Zhou, P., Li, P., Yang, F., Gao, X.-q. (2020). Long non-coding RNA H19 regulates proliferation and doxorubicin resistance in MCF-7 cells by targeting PARP1. *Bioengineered*, 11(1), 536–546. <https://doi.org/10.1080/21655979.2020.1761512>
61. Lukiswanto, B. S., Wijayanti, H., Fadhila, Y., Yuniarti, W. M., Arimbi, A., Kurnijasanti, R. (2022). Protective effect of Moringa oleifera leaves extract against gentamicin induced hepatic and nephrotoxicity in rats. *Iraqi Journal of Veterinary Sciences*, 37(1), 129–135. <https://doi.org/10.33899/ijvs.2022.133276.2197>
62. Mostafa-Hedeab, G., Hassan, M. E., Halawa, T. F., Ahmed Wani, f. (2022). Epigallocatechin gallate ameliorates tetrahydrochloride-induced liver toxicity in rats via inhibition of TGFβ/p-ERK/p-Smad1/2 signaling, antioxidant, anti-inflammatory activity. *Saudi Pharmaceutical Journal*, 30(9), 1293–1300. <https://doi.org/10.1016/j.jsps.2022.06.021>
63. Tak, E., Park, G.-C., Kim, S.-H., Jun, D. Y., Lee, J., Hwang, S. et al. (2016). Epigallocatechin-3-gallate protects against hepatic ischaemia — reperfusion injury by reducing oxidative stress and apoptotic cell death. *Journal of International Medical Research*, 44(6), 1248–1262. <https://doi.org/10.1177/0300060516662735>
64. Abdel Fattah, M. E., Sobhy, H. M., Reda, A., Abdelrazek, H. M. (2020). Hepatoprotective effect of Moringa oleifera leaves aquatic extract against lead acetate-induced liver injury in male Wistar rats. *Environmental Science and Pollution Research*, 27(34), 43028–43043. <https://doi.org/10.1007/s11356-020-10161-z>
65. Zhang, Y., Qu, X., Gao, H., Zhai, J., Tao, L., Sun, J. et al. (2020). Quercetin attenuates NLRP3 inflammasome activation and apoptosis to protect INH-induced liver injury via regulating SIRT1 pathway. *International Immunopharmacology*, 85, Article 106634. <https://doi.org/10.1016/j.intimp.2020.106634>

AUTHOR INFORMATION	СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ
Affiliation	Принадлежность к организации
Abdulrahman H. Laftah , PhD, Lecturer, Department of Food Science, College of Agriculture, University of Basra Basra, 61004, Iraq Тел.: +964–772–201–69–01 E-mail: abdulrahman.laftah@uobasrah.edu.iq ORCID: https://orcid.org/0009-0009-3243-275X * corresponding author	Лафтах А. Х. — PhD, преподаватель, факультет пищевых наук, сельскохозяйственный колледж, Университет Басры 61004, Ирак, Басра Тел.: +964–772–201–69–01 E-mail: abdulrahman.laftah@uobasrah.edu.iq ORCID: https://orcid.org/0009-0009-3243-275X * автор для контактов
Nawfal Alhelfi , Professor, Department of Food Science, College of Agriculture, University of Basra Basra, 61004, Iraq Тел.: +964–781–095–51–77 E-mail: nawfal.hussain@uobasrah.edu.iq ORCID: https://orcid.org/0000-0003-4499-0643	Алхулфи Н. — профессор, факультет пищевых наук, сельскохозяйственный колледж, Университет Басры 61004, Ирак, Басра Тел.: +964–781–095–51–77 E-mail: nawfal.hussain@uobasrah.edu.iq ORCID: https://orcid.org/0000-0003-4499-0643
Sadeq K. Al-Salait , Professor, Hematologist, Oncology unit, Al-Sadr Hospital Basra, 61004, Iraq College of Medicine, University of Warith Al-Anbiyaa, Karbala, Iraq Тел.: +964–780–214–64–20 E-mail: Sadiq.khalaf@uobasrah.edu.iq ORCID: https://orcid.org/0000-0003-4488-8307	Эль-Салейт С. К. — профессор, Отделение гематологии и онкологии, госпиталь Аль-Садр Басра, 61004, Ирак Медицинский колледж, Университет Варит Аль-Анбия, Кербела, Ирак Тел.: +964–780–214–64–20 E-mail: Sadiq.khalaf@uobasrah.edu.iq ORCID: https://orcid.org/0000-0003-4488-8307
Tarek G. Abedelmaksoud , Associate Professor, Department of Food Science, Faculty of Agriculture, Cairo University 1 Gamaa Street, 12613, Giza, Egypt Тел.: +2–0110–144–12–80 E-mail: tareekgamal_88@agr.cu.edu.eg ORCID: https://orcid.org/0000-0002-7012-6667	Абедельмаксуд Т. Г. — 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: https://orcid.org/0000-0002-7012-6667
Contribution	Критерии авторства
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
Conflict of interest	Конфликт интересов
The authors declare no conflict of interest.	Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

DOI: <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2025-8-1-16-21>

Received 24.09.2024

Accepted in revised 16.02.2025

Accepted for publication 19.02.2025

© Turcanu D., Siminiuc R., 2025

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

Original scientific article

Open access

KNOWLEDGE, PERCEPTION, AND CHALLENGES OF ADOPTING A GLUTEN-FREE DIET IN THE REPUBLIC OF MOLDOVA: A CROSS-SECTIONAL STUDY

Dinu Turcanu, Rodica Siminiuc*

Technical University of Moldova, Chisinau, Republic of Moldova

KEY WORDS:

gluten-related disorders, dietary adherence, nutritional awareness, food accessibility, public health strategies

ABSTRACT

Gluten-related disorders (GRD), including celiac disease, are managed through a strict gluten-free diet (GFD), the only established treatment. However, widespread awareness and understanding of GFD remains limited, particularly in countries like the Republic of Moldova, where celiac disease prevalence is under-researched. The primary objective of this study is to assess the knowledge, perceptions, and challenges associated with the adoption of a gluten-free diet (GFD) among the Moldovan population. A stratified sampling method was employed to collect 778 responses via an online questionnaire distributed across social media and educational platforms. The questionnaire assessed respondents' knowledge of gluten and GFD, perceptions of wheat and gluten, and purchasing behavior regarding GF products. Data were analyzed using descriptive statistics and ANOVA to explore differences across education levels and professional domains. Of the respondents, 77.3% could correctly define gluten, yet only 16.1% achieved a knowledge score above 50% regarding gluten-containing products and hidden gluten sources. Education level significantly influenced GFD knowledge ($p < 0.05$), with respondents holding postgraduate degrees demonstrating higher knowledge scores. Perceptions of gluten and wheat were predominantly neutral among GFD followers and non-followers. However, 21.1% of GFD followers perceived maintaining the diet as highly difficult, primarily due to limited availability and high costs of GF products. The study revealed a significant gap in knowledge of gluten and GFD in the Moldovan population, despite general awareness. Education level and profession were critical determinants of understanding. There is a clear need for targeted educational programs and improved access to GF products to enhance GFD adherence and management of GRD in Moldova. Public health interventions must prioritize raising awareness and addressing the economic barriers associated with GFD.

FUNDING: This work was supported by National Agency for Research and Development (NARD), [grant numbers 23.70105.5107.05], "Exploratory analysis of food security in the Republic of Moldova based on metrics of sustainable and nutritional quality (SNuQ) of food products" which runs at the Technical University of Moldova www.utm.md.

Поступила 24.09.2024

Поступила после рецензирования 16.02.2025

Принята в печать 19.02.2025

© Цуркану Д. Н., Симинюк Р. И., 2025

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

Научная статья

Open access

ИНФОРМИРОВАННОСТЬ, ВОСПРИЯТИЕ И ТРУДНОСТИ ПРИ ПЕРЕХОДЕ НА БЕЗГЛЮТЕНОВУЮ ДИЕТУ В РЕСПУБЛИКЕ МОЛДОВА: ПЕРЕКРЕСТНО-СТАТИСТИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ

Цуркану Д. Н., Симинюк Р. И.*

Технический университет Республики Молдавия, Кишинев, Республика Молдова

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: АННОТАЦИЯ

безглютеновая диета (БГД), информированность и восприятие, проблемы питания, осведомленность о питании, перекрестно-статистическое исследование

Заболевания, вызываемые глютеном (ЗВГ), включая целиакию, лечатся с помощью строгой безглютеновой диеты (БГД), единственного установленного метода лечения. Однако общая осведомленность и понимание сути БГД до сих пор не получили широкого распространения, особенно в таких странах, как Республика Молдова, где большинство случаев заболеваний целиакией изучено в недостаточной степени. Основная цель этого исследования — оценить информированность, восприятие и трудности, связанные с переходом на безглютеновую диету (БГД) среди населения Молдовы. Был применен метод стратифицированной выборки, в результате которого через онлайн-анкету, опубликованную в социальных сетях и на образовательных онлайн платформах, были получены 778 ответов. Анкета оценивала информированность респондентов о глютене и БГД, оценивала их восприятие пшеницы и глютена, изучала покупательское поведение в отношении безглютеновых (БГ) продуктов. Данные анализировались с использованием описательной статистики и дисперсионного анализа вариантов ANOVA для выделения различий в ответах в зависимости от уровня образования и областей профессиональной занятости. Из общего числа респондентов 77,3% смогли правильно определить глютен, но только 16,1% достигли уровня осведомленности выше 50% в отношении продуктов, содержащих глютен и скрытых источников глютена. Уровень образования значительно повлиял на знания о БГД ($p < 0,05$), при этом респонденты, имеющие ученые степени, продемонстрировали более высокие баллы знаний. Восприятие глютена и пшеницы было преимущественно нейтральным как среди лиц, соблюдающих БГД, так и лиц, не придерживающихся таковой. Однако 21,1% приверженцев БГД считали поддержание диеты крайне сложным, в первую очередь из-за ограниченной доступности и высокой стоимости БГ продуктов. Исследование выявило значительный пробел в знаниях о глютене и БГД среди населения Молдовы, несмотря на общую осведомленность о нем. Уровень образования и профессия были критическими факторами понимания сути. Имеется очевидная потребность в целевых образовательных программах и улучшенном доступе к БГ продуктам для повышения уровня распространенности соблюдения БГД и планированию и возможности придерживаться БГД в Молдове. Меры вмешательства в области общественного здравоохранения должны быть направлены на повышение уровня информированности и на устранение экономических барьеров, связанных с БГД.

FOR CITATION: Turcanu, D., Siminiuc, R. (2025). Knowledge, perception, and challenges of adopting a gluten-free diet in the Republic of Moldova: A cross-sectional study. *Food Systems*, 8(1), 16–21. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2025-8-1-16-21>

ДЛЯ ЦИТИРОВАНИЯ: Цуркану, Д. Н., Симинюк, Р. И. (2025). Информированность, восприятие и трудности при переходе на безглютеновую диету в Республике Молдова: перекрестно-статистическое исследование. *Пищевые системы*, 8(1), 16–21. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2025-8-1-16-21>

ФИНАНСИРОВАНИЕ: Данная работа подготовлена при поддержке Национальным агентством по исследованиям и разработкам (NARD) [гранты № 23.70105.5107.05] в рамках проекта «Исследовательский анализ продовольственной безопасности в Республике Молдова на основе показателей стабильного качества и питательности пищевых продуктов (SNuQ)», проводимого в Техническом университете Молдовы www.utm.md.

1. Introduction

Food insecurity is a growing concern, contributing to negative health outcomes and an increased risk of chronic diseases [1]. This is particularly true for individuals with gluten-related disorders (GRD), where food insecurity amplifies nutritional deficiencies, further complicating their required gluten-free diet (GFD) [2,3].

Globally, various strategies and interventions have been implemented to ensure food security and proper nutrition for individuals with GRD [4–7]. These include nutritional education policies and front-of-package labeling using color codes to indicate the nutritional properties of food, helping consumers, especially those with gluten intolerance, make informed choices. Medical and celiac associations advocate for the protection and expansion of federal programs to ensure that individuals with GRD are shielded during food crises [6,8,9].

In the Republic of Moldova, research on the prevalence of celiac disease is limited, and the information regarding its incidence, as well as other GRDs, is decentralized and often contradictory, being stored in various medical institutions [10–12]. Between 2010 and 2016, the incidence of celiac disease in children showed a continuous increase, ranging from 3 to 19 cases annually [10,13–15]. Currently, the national registry for celiac patients includes 67 individuals (adults and children) with a confirmed diagnosis and a disability status, but it is estimated that the actual number is significantly higher [10]. The GFD remains the sole therapeutic strategy for diseases related to gluten consumption [16,17]. However, adherence to a GFD can be challenging, as gluten is a common ingredient in most foods [18,19]. The risk of accidental exposure to gluten is substantial, as gluten or traces of it are present in approximately 80% of food products.

In the Republic of Moldova, there is no local production or certification for GF products, and public or private catering services for individuals with GRD are nonexistent [20]. The involvement of nutritionists and dietitians in creating balanced menus is limited or absent in public food services. Imported GF products are available only in limited quantities and at high prices, while the availability of social and nutritional support services is still in its early stages. National-level studies focusing on interventions to improve these aspects and, consequently, enhance the autonomy of individuals following a GFD are needed [16]. A crucial aspect of managing nutritional therapy for individuals with GRD is increasing public awareness [21].

This research stems from the need to improve public health, ensure food security, and optimize the management of gluten-related disorders. The aim of this study is to assess the knowledge and awareness of consumers in the Republic of Moldova regarding the GFD and to identify influencing factors, thus enabling the implementation of assertive interventions.

2. Objects and methods

2.1. Questionnaire

The questionnaire was designed to assess the level of knowledge, perceptions, and behaviors related to the GFD among the population of the Republic of Moldova. The instrument was developed based on the validated model from the Syracuse University Institutional Review Board (IRB) and adapted to the local context. The questionnaire was distributed online through social media and the official platforms of educational institutions. Data collection took place between April and June 2022.

The questionnaire included 15 questions structured into four categories: demographic characteristics, knowledge about gluten and GFD, perceptions, and behaviors related to the GFD food consumption. Demographic characteristics included five questions concerning gender, age, place of residence, education level, and professional domain. The level of knowledge was assessed through four questions about what gluten is, products and ingredients containing gluten, and sources of information about the GFD. The questions were formulated with dichotomous (correct/incorrect) and multiple-choice answers. Perception was assessed through three questions using a five-point Likert scale to measure the level of agreement or disagreement with statements related to wheat, gluten, and the difficulty of adhering to a GFD. The questionnaire also included three questions, with multiple-choice options: two questions regarding adherence to GFD and the main reasons for following it, the behavior of

purchasing GF products, and one question to identify sources of information about the GFD.

2.2. Sampling and data collection

Stratified sampling was used to ensure the representativeness of various demographic groups, including geographic areas (urban/rural), education levels, and age categories. The sample size was estimated at 384 respondents, applying the formula of Krejcie and Morgan, 1970 [22]:

$$N_{\min} = \frac{Np(a^2f(1-f))}{Np \times e^2a^2 \times f(1-f)},$$

$$n = \frac{X^2NP(1-P)}{d^2(N-1) + X^2P(1-P)},$$

$$n = \frac{3.84 \times 2\,604\,000 \times 0.5(1-0.5)}{0.52(2\,604\,000 - 1) + 3.84 \times 0.5(1-0.5)} = 383.94 \approx 384.$$

n — the number of individuals required for the survey; N — the population number in the Republic of Moldova as of 01.01.2022 ($N = 2\,604\,000$); P — the population proportion used to obtain the maximum sample size (assumed to be 0.5); X^2 — the value of chi-square for 1 degree of freedom at the desired confidence level (for $\alpha = 0.05$ for a 95% confidence level, it is $1.96^2 = 3.84$); d — the degree of precision expressed as a proportion (0.05).

A total of 778 questionnaires were validated.

2.3. Data Processing

All response options (except for demographic characteristics) were coded into numerical values to facilitate the calculation of aggregate scores for the level of knowledge. The maximum score for respondents' knowledge was set at 22 points. The questions for this criterion were scored as follows: correct answer = 1, incorrect answer = -1. The collected data were processed using descriptive analysis and the ANOVA test (Single Factor).

2.4. Limitations

Voluntary participation and the online distribution of the questionnaire may introduce selection bias, excluding certain demographic groups, such as individuals without internet access. There is also the risk of self-reporting bias, where respondents might overestimate or underestimate their knowledge level or dietary behaviors. Due to the sampling methods and the aforementioned limitations, the results may not be fully generalizable to the entire population of the Republic of Moldova. The questionnaire captured a single moment in time, without assessing long-term changes in knowledge or behaviors.

3. Results

3.1. Demographic characteristics of respondents

Of the total 778 respondents, 40% ($n = 308$) follow a GFD for various reasons. The majority of respondents (70.3%) were women, while men accounted for 29.7%. The age distribution showed that 49.6% of participants ($n = 386$) were between 18–34 years old, and respondents aged 35–44 represented 19.3%. Regarding the place of residence, 91% of participants were from urban areas (Table 1).

The respondents' education level showed that 37.4% ($n = 291$) had a university degree, 20.7% ($n = 161$) had a master's degree, 18.2% ($n = 141$) had completed high school, followed by respondents with a PhD (9%, $n = 70$) and secondary school graduates (8.6%, $n = 67$). According to the field of activity, about 16.7% ($n = 130$) of participants were employed in education, 13% ($n = 101$) in information technology, 10.1% ($n = 79$) in medicine, and only 4.9% ($n = 38$) in the food industry. Of the total respondents, 27.3% ($n = 213$) were not employed in any specific field of activity, and 12.8% ($n = 100$) worked in fields that were not listed in the questionnaire.

3.2. Level of knowledge about gluten and the gluten-free diet

On average, the respondents' knowledge scores were modest. Approximately 77.3% of respondents ($n = 602$) were able to correctly define what gluten is, but only 16.1% ($n = 128$) scored above 50% on questions about gluten-containing products and sources of gluten in foods. Education level influenced knowledge about gluten. Those with a master's degree had

Table 1. Demographic characteristics of the respondents

Таблица 1. Демографические характеристики респондентов

No. o.	Criteria	Respondents					
		Total		Non GFD		GFD	
		n	%	n	%	n	%
	Total respondents	778	100	470	60	308	40
	Gender						
1.	Male	230	29.7	155	20	75	10
2.	Female	548	70.3	315	40	233	30
	Age categories						
	Up to 17 years	150	19.3	108	14	42	5
1.	18–34 years old	386	49.6	219	28	166	21
2.	35–44 years old	141	19.4	87	11	64	8
3.	45–54 years old	64	8.2	41	5	23	3
4.	Over 55 years	28	3.6	15	2	13	2
	Residence						
1.	Urban	709	91.0	427	55	281	36
2.	Rural	70	9.0	43	6	27	3
	Training level						
1.	Middle school	67	8.6	41	5	26	3
2.	High school	142	18.2	88	11	54	7
3.	College	22	2.8	15	2	7	1
4.	University	291	37.4	176	23	114	15
5.	Masters	161	20.7	88	11	73	9
6.	PhD	70	9	49	6	21	3
7.	Other	26	3.3	13	2	13	2
	The field of activity						
1.	Education	130	16.7	79	10	51	7
2.	Researcher	12	1.5	11	1	1	0
3.	Housewife	10	1.3	4	1	6	1
4.	Construction	20	2.6	11	1	9	1
5.	Acquisitions	6	0.8	3	0	3	0
6.	Administrative	46	5.9	19	2	27	3
7.	Logistic	10	1.3	4	1	6	1
8.	Car transport	6	0.8	4	1	2	0
9.	Agriculture	8	1	4	1	4	1
10.	Information technologies	101	13	58	7	43	6
11.	Food industry	38	4.9	27	3	11	1
12.	Medicine	79	10.1	45	6	33	4
13.	I am not employed	213	27.3	146	19	67	9
14.	Other	100	12.8	55	7	45	6

Table 2. The level of knowledge of respondents by level of training and field of activity

Таблица 2. Уровень знаний респондентов в зависимости от уровня образовательной подготовки и сферы деятельности

Knowledge intervals		Number of respondents by score range													
		Education level								Field of activity (employment)					
		Total	University degree	Master's degree	PhD degree	Food industry	Medicine	Education							
Mean ± St. Dev.		7.34 ± 4.24	8.03 ± 4.48	8.23 ± 3.69	7.67 ± 4.81	7.31 ± 3.67	9.59 ± 4.02	7.14 ± 3.97	<i>F</i> = 14.65289; <i>p</i> -value = 0.000049						
Kurtosis		-0.11	-0.40	0.34	-0.39	-0.04	-0.78	0.76	<i>F</i> = 11.8849; <i>p</i> -value = 0.00039678						
Skewness		0.03	0.08	-0.14	-0.24	0.10	-0.14	-0.16							
%	N (22 max)	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
1. -27.3 ...0	-6...0	35	4.5	8	1	1	0	8	1	1	0	1	0	7	1
2. 0.5 ...13.6	0.1...3.0	116	14.9	8	1	18	2	6	1	4	1	4	1	13	2
3. 14.1...22.7	3.1...5.0	97	12.5	32	4	15	2	7	1	6	1	9	1	21	3
4. 23.2...31.8	5.1...7.0	166	21.3	58	7	32	4	14	2	9	1	14	2	32	4
5. 32.3...40.9	7.1...9.0	127	16.3	38	5	37	5	9	1	8	1	6	1	23	3
6. 41.4...50.0	9.1...11.0	109	14.0	44	6	26	3	11	1	6	1	15	2	17	2
7. 50.5...59.1	11.1...13.0	68	8.7	34	4	18	2	6	1	2	0	15	2	10	1
8. 59.5...68.2	13.1...15.0	38	4.9	19	3	10	1	6	1	1	0	11	1	4	1
9. 68.6...77.3	15.1...17.0	14	1.8	1	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0
10. 77.7...86.4	17.1...19.0	8	1.0												
11. 86.8...100	19.1...22	0	0	7	1	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0

the highest average scores (8.23 ± 3.69), followed by university graduates (8.03 ± 4.48) and PhD holders (7.67 ± 4.81). Respondents working in medicine achieved an average score of 9.59 ± 4.02 , followed by those in the food industry (7.31 ± 3.67) and education (7.14 ± 3.97) (Table 2).

The *F*-values are relatively high, indicating that there are significant differences between the mean scores across the three education levels and fields of activity, compared to the variation within the groups. The *p*-values (much lower than the standard significance threshold of 0.05) suggest that there are significant differences between the mean scores obtained based on education level and field of activity. Both education level and field of activity significantly influence the scores obtained in the questionnaire.

An attempt was made to determine whether there is a difference in the level of knowledge between respondents who follow a GFD and those who do not. The results showed that the scores of the respondents were nearly identical: the score for those following a GFD was 7.3 ± 4.02 , while the score for those not following a GFD was 7.401 ± 4.58 . Only 7.9% ($n=61$) of respondents following a GFD and 8.7% ($n=67$) of those not following a GFD showed a knowledge level above 50% (score greater than 11). Most respondents ($n=59$ for GFD and $n=107$ for non gluten free diet (NGFD)) had scores between 5.1 and 7.0 (Table 3).

Table 3. Level of knowledge of respondents who follow a GFD and those who do not follow a GFD

Таблица 3. Уровень знаний респондентов, придерживающихся БГД, и респондентов, не соблюдающих БГД

Knowledge Intervals		Number of respondents by score range			
Total		GFD		NGFD	
Mean ± St. Dev		7,3±4,02		7,401±4,58	
Kurtosis		0,112		-0,419	
Skewness		-0,173		0,224	
F = 1,36289796; p-value=0,25826854					
%	n	%	n	%	n
-27.3 ...0	-6...0	2.1	16	2.4	19
0.5 ...13.6	0.1...3.0	6.3	49	8.6	67
14.1...22.7	3.1...5.0	5.8	45	6.7	52
23.2...31.8	5.1...7.0	7.6	59	13.8	107
32.3...40.9	7.1...9.0	5.7	44	10.7	83
41.4...50.0	9.1...11.0	4.4	34	9.6	75
50.5...59.1	11.1...13.0	3.1	24	5.7	44
59.5...68.2	13.1...15.0	3.0	23	1.9	15
68.6...77.3	15.1...17.0	1.0	8	0.8	6
77.7...86.4	17.1...19.0	0.8	6	0.3	2
86.8...100	19.1...22	0.0	0	0.0	0
Total		39.6	308	60.4	470

3.3. Perception and difficulty in adopting a GFD

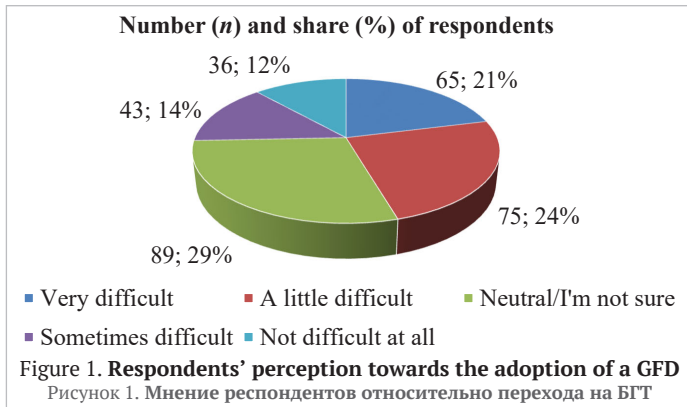
15.3% ($n = 119$) of respondents following a GFD and 23.1% ($n = 180$) of those not following a GFD had a neutral perception of both wheat and gluten. Only 8.2% ($n = 64$) of GFD followers disagreed (including strongly disagreed) with the statement "Wheat is good for me," and 17.1% ($n = 133$) disagreed with the statement "Gluten is good for me" (Table 4).

Table 4. Perception of gluten and wheat by respondents following a GFD and those not following a GFD

Таблица 4. Восприятие глютена и пшеницы респондентами, соблюдающими БГД, и респондентами, не соблюдающими БГД

		GFD		NGFD	
Wheat perception	Mean ± St. Dev	0.33 ± 1.21		0.77 ± 1.13	
	Kurtosis	−0.700		−0.406	
	Skewness	−0.206		−0.499	
		n	%	n	%
	Strongly disagree	29	3.7	23	3.0
	Disagree	35	4.5	16	2.1
	Neutral	119	15.3	180	23.1
	Agree	55	7.1	79	10.2
Strongly agree	70	9.0	172	22.1	
Gluten perception	Mean ± St. Dev	− 0.25 ± 1.21		0.45 ± 1.08	
	Kurtosis	−0.877		−0.435	
	Skewness	0.164		−0.221	
	Strongly disagree	57	7.3	23	3.0
	Disagree	76	9.8	49	6.3
	Neutral	90	11.6	187	24.0
	Agree	58	7.5	114	14.7
	Strongly agree	27	3.5	97	12.5
Correlation coefficient		0.52		0.53	

Only 21.1% of those following a GFD considered its adoption to be very difficult, while 28.9% remained neutral regarding the difficulty (Figure 1).



3.4. Sources of information

The primary sources of information about the GFD were the internet and social media (61.7%), followed by consultations with doctors (16.1%) and nutritionists (14.8%). These results highlight the importance of reliable and rigorous sources of information, given the prevalence of unverified information online (Table 5).

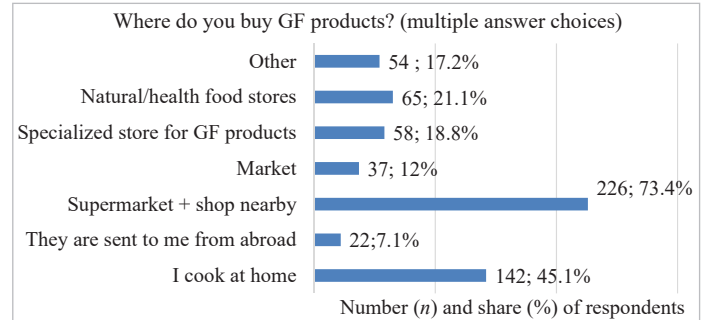
Table 5. Respondents' sources of information on gluten and GFD

Таблица 5. Источники информации респондентов о глютене и БГД

Source of information	Follow a GFD		Not following a GFD		Total	
	n	%	n	%	n	%
From the doctor	62	7.97	63	8.1	125	16.1
From the dietician/nutritionist	62	7.97	53	6.8	115	14.8
Research (academic journals, thesis/research project)	36	4.63	48	6.2	84	10.8
Family and friends	32	4.11	37	4.8	69	8.9
Internet/TV/News/social media	205	26.35	275	35.3	480	61.7

3.5. Purchasing behavior of GF products

Among those following a GFD, 73.4% ($n = 226$) purchase their products from supermarkets and local stores, while 45.1% ($n = 142$) prefer to prepare GF foods at home due to the high costs and limited variety of available products. Additionally, 39.9% ($n = 123$) buy products from specialized stores, while 7.1% ($n = 22$) receive food from abroad (Figure 2).



4. Discussions

The survey results regarding the demographic characteristics of the respondents provide a clear picture of the socio-demographic groups involved in the study. A significant proportion of respondents were women (70.3%), which may reflect a general trend where women are more likely to participate in studies related to diet and health. These results are consistent with other studies (both cross-sectional and longitudinal panel studies) where systematic gender differences in survey participation are commonly observed [23,24]. Gender differences in participation in diet-related studies can influence both the interpretation and applicability of the results, suggesting that it is important to analyze gender-specific eating behaviors in more detail [25,26]. The age distribution shows that nearly half of the respondents (49.6%) were between 18 and 34 years old. This trend suggests that young adults are more receptive to online surveys and topics related to diet and health, possibly due to a greater interest in preventing chronic conditions and adopting restrictive diets such as the GFD [27,28]. Respondents over the age of 45 were less represented in the survey, which may indicate either a lack of interest in the GFD among this age group or barriers to accessing online platforms [29,30]. Another important aspect is the distribution of respondents based on their place of residence. The overwhelming majority of participants came from urban areas (91%), highlighting a possible unequal dissemination of information about celiac disease and the GFD between urban and rural environments. Access to nutrition information and resources is often limited in rural areas, which could affect awareness and the adoption of specific diets [29,30].

Although the GFD is recognized as a treatment for celiac disease, widespread awareness of the specific requirements of this diet remains insufficient among the general public and in certain professional sectors. The survey results indicate a significant variation in knowledge levels about gluten and the GFD among participants. While 77.3% of respondents were able to provide a correct definition of gluten, only 16.1% scored above 50% on the knowledge test. This highlights important gaps in understanding which foods contain gluten and identifying appropriate products for a GFD. This discrepancy suggests that, although there is a general awareness of the term "gluten", essential details about hidden sources of gluten and GF products remain unclear to a significant portion of the population. These findings are consistent with previous research, which has shown that consumers worldwide have varying levels of knowledge about gluten and GF products [28]. Studies have demonstrated that, particularly in countries where celiac disease is not frequently diagnosed or publicly discussed, education about the GFD is limited. As a result, even individuals following the diet may apply it incorrectly [25].

Another significant finding is the clear relationship between education level and knowledge about gluten. A large proportion of respondents have higher education (37.4% with a university degree and 20.7% with a master's degree), suggesting that education level directly influences awareness and understanding of the GFD. These findings are supported by existing research, which shows that individuals with higher educational attainment are more likely to adopt specific diets, such as the GFD, either for health reasons or due to increased awareness of food-related issues [3]. The results obtained from the ANOVA test showed significant differences between the mean scores for the three education levels (University, Master's, PhD), confirming the hypothesis that education level

plays a crucial role in the ability to correctly identify gluten-containing foods [3,30]. Individuals working in fields such as the food industry, medicine, and education showed varying performance, although the overall knowledge level remained relatively low. The differences may reflect varying levels of knowledge or professional experience, as well as different access to educational resources and specialized training in each field. These results highlight the need for greater involvement of professionals in educating the public about the GFD, both for patients diagnosed with celiac disease and for those following this diet for other reasons [4]. The survey results regarding respondents' perception of gluten, wheat, and the difficulty of adopting a GFD provide important insights into general attitudes toward these topics. Most respondents had a neutral perception of both wheat and gluten, among those following a GFD and those who are not.

The perception of wheat and gluten was analyzed using a five-point Likert scale. Only 8.2% of those following a GFD and 17.1% of those not following such a diet expressed strong or total disagreement with the statement "Wheat is good for me". This result suggests that a negative perception of wheat and gluten is more prevalent among those following a GFD, though still at a relatively low level. These findings are consistent with previous studies, which have shown that negative perceptions of gluten and wheat are largely influenced by diagnosis and personal experiences related to symptoms caused by gluten consumption [25]. For respondents not following a GFD, the neutral perception of gluten and wheat suggests a lack of understanding of the potential impact gluten can have on sensitive individuals. Conversely, this group may view gluten and wheat as natural parts of their regular diet, without being aware of the dietary implications of these foods for people with gluten sensitivity [30].

An important aspect of this study was the respondents' perceptions regarding the difficulty of adopting and maintaining a gluten-free diet (GFD). Approximately 21.1% of respondents who follow a GFD reported that maintaining this diet is "very difficult," while 28.9% had a neutral perception. These findings highlight the significant challenges faced by individuals on a GFD, particularly regarding access to gluten-free products and their high costs [16]. According to other studies, adhering to a GFD is often associated with feelings of frustration and difficulties in meal management, especially due to the widespread presence of gluten in most processed foods [28].

Furthermore, the perception of difficulty may be linked to the insufficient variety of GF products available in local markets, a problem exacerbated in countries where demand for GF products is limited and support infrastructure for those with GRD is underdeveloped [4]. In Moldova, these obstacles are amplified by the lack of supportive policies for

individuals who require a gluten-free diet, as highlighted in other studies that examined the challenges of accessing gluten-free products in low- and middle-income countries [12,31].

A significant finding of the survey is that 61.7% of respondents reported the internet and social media as their main sources of information about GFD. Although these sources are accessible and fast, they are not always reliable, and the information can be incomplete or inaccurate. Previous studies have shown that consumers relying on online sources may adopt inappropriate diets, being unaware of the correct nutritional needs [32,33]. This suggests the need to provide consumers with access to scientifically validated information, as well as to increase the role of healthcare professionals in educating the public about TACG and GFD [3]. Furthermore, only 16.1% of respondents mentioned doctors as their primary sources of information, indicating an insufficient level of involvement from medical staff in educating patients about celiac disease and the GFD. This highlights an opportunity for healthcare systems to improve education about GFD and provide clear, practical information to patients [16].

5. Conclusions

This study has provided important insights into the knowledge gaps, perceptions, and challenges related to the gluten-free diet (GFD) among the Moldovan population. Despite a general awareness of the term "gluten", critical details such as identifying hidden sources of gluten and understanding the correct implementation of a GFD remain unclear for a majority of the population. The findings demonstrated that education level significantly influences the degree of knowledge, with individuals holding higher education degrees displaying a better understanding of GFD.

The challenges in adopting a GFD, including the high costs and limited availability of gluten-free products, were also highlighted, particularly in a context where public support and national infrastructure for individuals with gluten-related disorders (GRD) are lacking. Given the growing awareness of celiac disease and the need for a GFD among specific population groups, this study underscores the importance of implementing educational programs and establishing policies to ensure better access to gluten-free products in Moldova.

The significance of this research for Moldova lies in its potential to shape future public health strategies and policies. It reveals the need for more accessible educational resources regarding GFD, improved public awareness, and economic measures that ensure access to gluten-free products. By addressing these gaps, Moldova can improve the quality of life for individuals with celiac disease and other gluten-related disorders, thus enhancing food security and nutritional health across the country.

REFERENCES:

1. FAO, IFAD, UNICEF, WFP and WHO. (2022). The State of Food Security and Nutrition in the World. FAO. Rome, 2022. <https://doi.org/10.4060/cc0639en>
2. Al-Toma, A., Volta, U., Auricchio, R., Castillejo, G., Sanders, D. S., Cellier, C. et al. (2019). European Society for the Study of Coeliac Disease (ESsCD) guideline for coeliac disease and other gluten-related disorders. *United European Gastroenterology Journal*, 7(5), 585–613. <https://doi.org/10.1177/2050640619844125>
3. Ma, C., Singh, S., Jairath, V., Radulescu, G., Ho, S. K. M., Choi, M. Y. (2022). Food insecurity negatively impacts gluten avoidance and nutritional intake in patients with celiac disease. *Journal of Clinical Gastroenterology*, 56(10), 863–868. <https://doi.org/10.1097/MCG.0000000000001646>
4. Pinto-Sanchez, M. I., Silvester, J. A., Lebwohl, B., Leffler, D. A., Anderson, R. P., Therrien, A. et al. (2021). Society for the Study of Celiac Disease position statement on gaps and opportunities in coeliac disease. *Nature Reviews Gastroenterology and Hepatology*, 18(12), 875–884. <https://doi.org/10.1038/s41575-021-00511-8>
5. Siqueira, R. L. D., Freitas, D. M. D. O., Fernandino, S. S. G., Cruz, P. S., Oliveira, C. B. D., Fraga, L. N. et al. (2022). The Brazilian State has assured the human right to adequate food for people with celiac disease? *Research, Society and Development*, 11(9), Article e36111931742. <https://doi.org/10.33448/rsd-v11i9.31742>
6. Bilaver, L. A., Das, R., Martinez, E., Brown, E., Gupta, R. S., Love, M. (2021). Addressing the social needs of individuals with food allergy and celiac disease during COVID-19: A new practice model for sustained social care. *Social Work in Health Care*, 60(2), 187–196. <https://doi.org/10.1080/00981389.2021.1904323>
7. Hanci, O., Jeanes, Y. M. (2019). Are gluten-free food staples accessible to all patients with coeliac disease? *Frontline Gastroenterology*, 10(3), 222–228. <https://doi.org/10.1136/flgastro-2018-101088>
8. Center for Science in the Public Interest. (2023). The food labeling modernization act 2023. Retrieved from https://www.cspinet.org/sites/default/files/2023-04/FLMA%20Factsheet_2023.pdf Accessed August 24, 2024.
9. Falcomer, A. L., Luchine, B. A., Gadelha, H. R., Szelcenczi, J. R., Nakano, E. Y., Farage, P. et al. (2020). Worldwide public policies for celiac disease: Are patients well assisted? *International Journal of Public Health*, 65(6), 937–945. <https://doi.org/10.1007/s00038-020-01451-x>
10. Raba, T., Bologa, L., Revenco, N., Tcaciuc, E., Corlăteanu, A., Nicu, O. et al. (2022). *Celiac disease in children: Current concepts of diagnostic management*. National Conference with International Participation "Interdisciplinary child management", Chisinau, 2022. Retrieved from https://ibn.idsi.md/sites/default/files/imag_file/110-119_5.pdf Accessed August 15, 2024. (In Romanian)
11. Siminiuc, R. (2024). Exploratory analysis of nutritional security in the Republic of Moldova. Habilitation Dissertation. Chisinau, Technical University of Moldova, 2024. Retrieved from <https://repository.utm.md/bitstream/handle/5014/27299/Teza-doctor-habilitat-Rodica-SIMINIUC.pdf?sequence=5&isAllowed=y> Accessed August 15, 2024. (In Romanian)
12. Turcanu, D. (2023). Nutritional security of people with gluten-related disorders in the Republic of Moldova. Doctoral Dissertation. Chisinau, Technical University of Moldova, 2023. Retrieved from <http://repository.utm.md/bitstream/handle/5014/23531/Teza-Doctor-Dinu-Turcanu.pdf?sequence=4&isAllowed=y> Accessed August 15, 2024. (In Romanian)
13. Siminiuc, R., Turcanu, D. (2020). Certain aspects of nutritional security of people with gluten-related disorders. *Food and Nutrition Sciences*, 11(11), 1012–1031. <https://doi.org/10.4236/fns.2020.111072>
14. Ion, M., Clichici, D. (2016). Celiac disease in children. National clinical protocol for children PCN-167. Ministry of Health of the Republic of Moldova, 2016. Retrieved from https://repository.usmf.md/bitstream/20.500.12710/10406/1/Boala_celiaca_la_copii_Protocol_clinic_national_PCN_167.pdf Accessed August 16, 2024. (In Romanian)
15. Clichici, D. (2018). Assessment of clinical, serological and morphological features of early diagnosis of celiac disease in children. Doctor Dissertation. Chisinau, State University of Medicine and Pharmacy "Nicolae Testemitanu", 2018. Retrieved from <http://www.cnaa.md/files/theses/2018/53650/autofarat-clichici-diana-06.06.18.pdf> Accessed August 16, 2024. (In Romanian)
16. de Oliveira, D. C. L., da Silva, V. M. B., da Silva, L. M. C. (2022). Challenges in adhering the gluten-free diet. *Research, Society and Development*, 11(2), Article e34411226008. <https://doi.org/10.33448/rsd-v11i2.26008> (In Portuguese)
17. Dolinšek, J., Dolinšek, J., Rižnik, P., Krenčnik, T., Klemenak, M., Mijatov M. A.K. et al. (2021). Life with celiac disease. National Institute for Maternal and Child Health "Alessandrescu-Rusescu". Bucharest, 2021. Retrieved from <https://www.>

- interreg-danube.eu/uploads/media/approved_project_output/0001/48/9d1dbf5e30a5329690faefee43147bd67750ea6a.pdf Accessed August 16, 2024. (In Romanian)
18. Aspasia, S., Emmanuela-Kalliopi, K., Nikolaos, T., Eirini, S., Ioannis, S., Anastasia, M. (2022). The gluten-free diet challenge in adults with coeliac disease: The Hellenic survey. *PEC Innovation*, 1, Article 100037. <https://doi.org/10.1016/j.pecinn.2022.100037>
 19. Siminiuc, R., Turcanu, D. (2023). Technological approaches applied in the design of gluten-free bakery products. *Czech Journal of Food Sciences*. 41(3), 155–172. <https://doi.org/10.17221/180/2022-CJFS>
 20. Siminiuc, R., Turcanu, D. (2023). Challenges and trends in gluten-free product development Echim ART, 2023. Retrieved from <http://repository.utm.md/bitstream/handle/5014/23556/Provocari-tendinte-dezv-produse-fara-gluten-Monografie.pdf?sequence=1&isAllowed=y> Accessed August 16, 2024. (In Romanian)
 21. Taşkin, B., Savlak, N. (2021). Public awareness, knowledge and sensitivity towards celiac disease and gluten-free diet is insufficient: A survey from Turkey. *Food Science and Technology*, 41(1), 218–224. <https://doi.org/10.1590/fst.07420>
 22. Krejcie, R. V., Morgan, D. W. (1970). Determining sample size for research activities. *Educational and Psychological Measurement*, 30(3), 607–610. <https://doi.org/10.1177/001316447003000308>
 23. Becker, R. (2017). Gender and survey participation an event history analysis of the gender effects of survey participation in a probability-based multi-wave panel study with a sequential mixed-mode design. *Methods, Data, Analyses*, 16(1), 3–32. <https://doi.org/10.12758/MDA.2021.08>
 24. Tan, J., Yoshida, Y., Ma, K. S.-K., Mauvais-Jarvis, F., Lee, C.-C. (2022). Gender differences in health protective behaviours and its implications for COVID-19 pandemic in Taiwan: A population-based study. *BMC Public Health*, 22(1), Article 1900. <https://doi.org/10.1186/s12889-022-14288-1>
 25. Lebowitz, B., Sanders, D. S., Green, P. H. R. (2018). Coeliac disease. *The Lancet*, 391(10115), 70–81. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(17\)31796-8](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(17)31796-8)
 26. Leonard, M. M., Sapone, A., Catassi, C., Fasano, A. (2017). Celiac disease and nonceliac gluten sensitivity: A Review. *JAMA*, 318(7), Article 647. <https://doi.org/10.1001/jama.2017.9730>
 27. Świercz, A., Żurek, U., Tołwiński, I., Kędzierska, Z., Antkowiak, K., Dadas, K. et al. (2023). Does a gluten-free diet result in nutritional deficiencies? — A review of literature. *Journal of Education, Health and Sport*, 34(1), 140–153. <https://doi.org/10.12775/JEHS.2023.34.01.012>
 28. Vici, G., Belli, L., Biondi, M., Polzonetti, V. (2016). Gluten free diet and nutrient deficiencies: A review. *Clinical Nutrition*, 35(6), 1236–1241. <https://doi.org/10.1016/j.clnu.2016.05.002>
 29. Jildeh, T. R., Castle, J. P., Abbas, M. J., Dash, M. E., Akioyamen, N. O., Okoroha, K. R. (2021). Age significantly affects response rate to outcomes questionnaires using mobile messaging software. *Arthroscopy, Sports Medicine, and Rehabilitation*, 3(5), e1349–e1358. <https://doi.org/10.1016/j.asmr.2021.06.004>
 30. Laszkowska, M., Shiwani, H., Belluz, J., Ludvigsson, J. F., Green, P. H. R., Sheehan, D. et al. (2018). Socioeconomic vs health-related factors associated with google searches for gluten-free diet. *Clinical Gastroenterology and Hepatology*, 16(2), 295–297. <https://doi.org/10.1016/j.cgh.2017.07.042>
 31. Siminiuc, R., Turcanu, D. (2022). Food security of people with celiac disease in the Republic of Moldova through prism of public policies. *Frontiers in Public Health*, 10, Article 961827. <https://doi.org/10.3389/fpubh.2022.961827>
 32. Chen, Y., Wang, P., He, Y., Jiang, F., Liu, H., Liu, Y. et al. (2022). Gender differences in the association between lifestyle behaviors and mental health among psychiatrists in China. *Journal of Affective Disorders*, 318, 196–203. <https://doi.org/10.1016/j.jad.2022.08.089>
 33. Letamo, G., Keetile, M., Navaneetham, K., Medupe, K. (2022). Gender differences in dietary behaviours, health-related habits and prevalence of non-communicable diseases in Botswana. *Journal of Biosocial Science*, 54(6), 1067–1077. <https://doi.org/10.1017/S0021932021000572>

AUTHOR INFORMATION	СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ
Affiliation	Принадлежность к организации
Dinu Turcanu , Doctor, Associate Professor, Department of Food and Nutrition, Technical University of Moldova bd. Ștefan cel Mare, 168, Chișinău, Moldova, MD-2004 Tel.: +373–78–90–80–70 E-mail: dinu.turcanu@adm.utm.md ORCID: https://orcid.org/0000-0001-5540-4246	Цуркану Дину Николаевич , доктор, профессор, Кафедра пищевых продуктов и питания, Технический Университет Молдовы Республика Молдова, Кишинев, бул. Штефан чел Маре, 168, MD-2004 Тел.: +373–78–90–80–70 E-mail: dinu.turcanu@adm.utm.md ORCID: https://orcid.org/0000-0001-5540-4246
Rodica Siminiuc , Doctor, Associate Professor, Department of Food and Nutrition, Technical University of Moldova bd. Ștefan cel Mare, 168, Chișinău, Moldova, MD-2004 Tel.: +373–69–57–91–20 E-mail: rodica.siminiuc@adm.utm.md ORCID: https://orcid.org/0000-0003-4257-1840 * corresponding author	Симиниук Родика Ивановна , Доктор, профессор, Кафедра пищевых продуктов и питания, Технический Университет Молдовы Республика Молдова, Кишинев, бул. Штефан чел Маре, 168, MD-2004 Тел.: +373–69–579–120 E-mail: rodica.siminiuc@adm.utm.md ORCID: https://orcid.org/0000-0003-4257-1840 * автор для контактов
Contribution	Критерии авторства
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
Conflict of interest	Конфликт интересов
The authors declare no conflict of interest.	Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

DOI: <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2025-8-1-22-28>

Поступила 07.11.2024

Поступила после рецензирования 14.02.2025

Принята в печать 19.02.2025

© Куликов Д. С., Королев А. А., 2025

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

Обзорная статья

Open access

АСПЕКТЫ ФЕРМЕНТАТИВНОЙ МОДИФИКАЦИИ РАСТИТЕЛЬНЫХ БЕЛКОВ

Куликов Д. С.*, Королев А. А.

Всероссийский научно-исследовательский институт технологии консервирования, Видное, Московская область

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: АННОТАЦИЯ

растительные белки, ферменты, микроорганизмы, модификация, белковые гидролизаты, биоактивные пептиды

В связи с постоянным увеличением населения и растущим спросом на продукты питания с повышенным содержанием биологически ценного белка возрастает интерес к получению таких продуктов из источников, альтернативных животному сырью. Производство протеинов из растительного сырья с высокой биологической ценностью является перспективным направлением для исследований. Растительные белки обладают сравнительно низкой усвояемостью и имеют функционально-технологические свойства, ограничивающие их применение в продуктах питания. Для повышения усвояемости и изменения функционально-технологических свойств растительные белки модифицируют химическими, физико-химическими и биотехнологическими способами. Наиболее экологичной и экономически выгодной является биотехнологическая обработка сырья как исходными микроорганизмами (молочнокислые бактерии родов *Lactobacillus*, *Staphylococcus*, *Pediococcus*, *Enterococcus*, *Staphylococcus*, *Micrococcus* и *Leuconostoc*, бактерии рода *Bacillus*, грибы родов *Aspergillus*, *Rhizopus*, *Saccharomyces* и *Candida* spp.), так и получаемыми из них ферментными препаратами протеолитического действия. Ферментативная модификация позволяет решить проблему низкой усвояемости растительных белков, улучшить их функционально-технологические свойства, снизить аллергенность и нейтрализовать специфический вкус. Кроме того, биотехнологический метод модификации микроорганизмами и ферментными препаратами используется и для гидролиза белков до биоактивных пептидов, предназначенных для функционального питания: с высокой антиоксидантной, противоопухолевой, противодиабетической и минералосвязывающей активностью. В процессе модификации следует учитывать тип используемого фермента или микроорганизма, его концентрацию, степень гидролиза, тип сырья, молекулярную массу его белков и другие факторы, влияющие на качество получаемых гидролизатов и пептидов. В противном случае ферментативная модификация вызывает нежелательные изменения: снижение функционально-технологических свойств и питательной ценности, а также ухудшение органолептических показателей, в частности усиление горечи гидролизатов. В данном обзоре представлен анализ широкого спектра результатов исследований российских и зарубежных ученых за последние годы в области ферментативной модификации растительных белков. Основное внимание уделено получению белковых гидролизатов и биоактивных пептидов высокого качества, способных конкурировать с белками животного происхождения.

ФИНАНСИРОВАНИЕ: Статья подготовлена в рамках выполнения исследований по государственному заданию № FGUS-2024-0006 Федерального научного центра пищевых систем им. В. М. Горбатова Российской академии наук.

Received 07.11.2024

Accepted in revised 14.02.2025

Accepted for publication 19.02.2025

© Kulikov D. S., Korolev A. A., 2025

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

Review article

Open access

ASPECTS OF ENZYMATIC MODIFICATION OF PLANT PROTEINS

Denis S. Kulikov*, Aleksey A. Korolev

Russian Research Institute of Canning Technology, Vidnoe, Moscow region, Russia

KEY WORDS:

plant proteins, enzymes, microorganisms, modification, protein hydrolysates, bioactive peptides

ABSTRACT

Due to the constant increase in population and the growing demand for food products with a high content of biologically valuable protein, there is a growing interest in obtaining such products from sources alternative to animal raw materials. The production of proteins from plant raw materials with high biological value is a promising area for research. Plant proteins have relatively low digestibility and have functional and technological properties that limit their use in food products. To increase digestibility and change the functional and technological properties, plant proteins are modified by chemical, physicochemical and biotechnological methods. The most environmentally friendly and cost-effective is biotechnological processing of raw materials with both the original microorganisms (lactic acid bacteria of the genera *Lactobacillus*, *Staphylococcus*, *Pediococcus*, *Enterococcus*, *Staphylococcus*, *Micrococcus* and *Leuconostoc*, bacteria of the genus *Bacillus*, fungi of the genera *Aspergillus*, *Rhizopus*, *Saccharomyces* and *Candida* spp.) and proteolytic enzyme preparations obtained from them. Enzymatic modification makes it possible to solve the problem of low digestibility of plant proteins, improve their functional and technological properties, reduce allergenicity and neutralize specific taste. Enzymatic modification allows us to solve the problem of low digestibility of plant proteins, their functional and technological properties, reduce allergenicity and neutralize specific taste. In addition, the biotechnological method of modification with microorganisms and enzyme preparations is also used for hydrolysis of proteins to bioactive peptides intended for functional nutrition: with high antioxidant, antitumor, antidiabetic and mineral-binding activity. In the process of modification, it is necessary to take into account the type of enzyme or microorganism used, its concentration, degree of hydrolysis, type of raw material, molecular weight of its proteins and other factors affecting the quality of the obtained hydrolysates and peptides. Otherwise, enzymatic modification causes undesirable changes: a decrease in functional and technological properties and nutritional value, as well as deterioration in organoleptic indicators, in particular an increase in the bitterness of hydrolysates. This review presents an analysis of a wide range of research results of Russian and foreign scientists in recent years in the field

ДЛЯ ЦИТИРОВАНИЯ: Куликов, Д. С., Королев, А. А. (2025). Аспекты ферментативной модификации растительных белков. *Пищевые системы*, 8(1), 22–28. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2025-8-1-22-28>

FOR CITATION: Kulikov, D. S., Korolev, A. A. (2025). Aspects of enzymatic modification of plant proteins. *Food Systems*, 8(1), 22–28. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2025-8-1-22-28>

of enzymatic modification of plant proteins. The main focus is on obtaining protein hydrolysates and high-quality bioactive peptides that can compete with proteins of animal origin.

FUNDING: The article was prepared as part of the research under the state assignment No. FGUS-2024-0006 of the V. M. Gorbatov Federal Scientific Center for Food Systems of the Russian Academy of Sciences.

1. Введение

Мировое производство белков из растительного сырья в последние годы стремительно растет [1,2]. По прогнозам, к 2027 году рынок растительных белков составит 17,4 млрд долларов, увеличившись за пять лет на 42,6% [2]. Процесс их производства экономически выгоден и экологически безопасен [1,3,4]. Например, выработка 1 кг растительных культур (соя, горох, нут, чечевица и др.) требует меньше воды в 2,2–11,0 раз, чем производство аналогичного количества курятины, и в 8,6–43,0 раза меньше 1 кг говядины [3]. Снижены также выбросы углекислого газа при производстве растительных культур (кг CO₂ на 1 кг): соя — 3,2 кг; овес — 2,5 кг; пшеница и рожь — 1,6 кг; горох — 0,98 кг. Для сравнения при производстве птицы, свинины, баранины и говядины эти показатели составляют в среднем 9,9; 12,0; 40,0 и 99,0 кг газа, соответственно [4]. Несмотря на то, что растительные белки, как правило, имеют дефицит одной или нескольких незаменимых аминокислот, их широко применяют в качестве пищевых и кормовых добавок, а также в производстве продуктов функционального питания [5]. Использование растительных белков в пищевой промышленности ограничивается их высокой аллергенностью (в особенности сои) а также низкими функционально-технологическими свойствами и усвояемостью, по сравнению с животными белками [6]. Для решения данной проблемы проводят модификацию белка путем конформации (разворачивание, агрегация, сшивание) или фрагментации полипептидной цепи химическими, физико-химическими и биотехнологическими методами [7,8]. Химические методы являются наиболее распространенными в части нетермической модификации растительных белков. Однако процесс химической модификации связан с загрязнением окружающей среды и со сложностями в очистке готового продукта от остаточного количества реагентов [1,9,10]. Физические методы модификации, предназначенные для промышленного производства и предусматривающие отсутствие термической обработки белков (ультразвук, импульсное электрическое поле, радиоволны, холодная плазма и др.) малорентабельны из-за высокой стоимости оборудования и жестких условий выработки качественных продуктов [1,7,9].

Биотехнологическая модификация растительных белков с использованием различных штаммов микроорганизмов или полученных из них ферментов отличается высокой специфичностью, воспроизводимостью, экономичностью и экологичностью в сравнении с химическими и физико-химическими методами [7,9,11]. Данный подход позволил расширить ассортимент растительных белков с улучшенными функционально-технологическими свойствами и усвояемостью. Биотехнологическая модификация используется и для производства пептидов с антиоксидантными, антигипертензивными, противораковыми, антимикробными, гипохолестериновыми и иммуномодулирующими свойствами [9,12]. Цель данного обзора — проанализировать публикации российских и зарубежных ученых, посвященные микроорганизмам и условиям модификации растительных белков. В работе рассмотрено влияние таких методов на усвояемость, аллергенность, функционально-технологические и биоактивные свойства белков и пептидов.

2. Объекты и методы

В качестве объектов исследования выбраны публикации, посвященные ферментативной модификации растительных белков. В обзоре анализируется влияние этого метода на функциональные свойства и качество получаемых белковых гидролизатов и биоактивных пептидов. Методами для проведения исследований служили поиск, обзор и анализ научных публикаций по данной тематике, большинство из которых опубликованы в течение 2017–2024 годов. Проанализированные работы отличались достоверными результатами и высокой цитируемостью.

Поиск научных публикаций осуществлялся в библиографических базах eLIBRARY.RU, Researchgate.net, RSCI, Scopus, Web of Science, Elsevier, PubMed по следующим ключевым словам: растительные белки, ферменты, микроорганизмы, модификация, белковые гидролизаты, биоактивные пептиды. Опубликованные и отобранные результаты исследований были проанализированы, систематизированы, обобщены, после чего были сделаны выводы по разделам и общее заключение.

3. Используемые микробиологические модификаторы

Ферментативная модификация растительного сырья заключается в расщеплении под действием микроорганизмов или ферментных препаратов полисахаридов и полипептидов на более мелкие фрагменты, которые легче усваиваются организмом [9,13]. Для модификации белков используются микроорганизмы (бактерии, дрожжи или плесени), вырабатывающие протеолитические ферменты (протеиназы и пептидазы), которые способны расщеплять молекулы белков на пептиды с различной молекулярной массой и в дальнейшем высвобождать аминокислоты [14].

Молочнокислые бактерии (МКБ), включая *Lactobacillus*, *Staphylococcus*, *Pediococcus*, *Enterococcus*, *Staphylococcus*, *Micrococcus* и *Leuconostoc*, в основном используются для ферментации белков и вторичных продуктов переработки растительных культур [10,15–19]. Помимо этих микроорганизмов, бактерии рода *Bacillus*, некоторые грибы родов *Aspergillus*, *Rhizopus*, *Saccharomyces* и *Candida* spp. и полученные из них ферментные препараты также используются для ферментации белков растительного происхождения, расщепляя полипептиды и высвобождая большое количество аминокислот [8,20,21]. Получаемые таким образом гидролизаты характеризуются улучшенными органолептическими показателями, функционально-технологическими свойствами, усвояемостью и гипоаллергенностью [13,14].

4. Свойства микробиологических модификаторов

4.1. Улучшение органолептических показателей

Одной из главных проблем при производстве растительных белков, в особенности бобовых, является присутствие в полученных продуктах горечи, а также характерного бобового привкуса и запаха. Ферментация с применением микроорганизмов способна нейтрализовать данные недостатки. Например, снижение горечи горохового изолята установлено после 24 часов ферментации с шестью различными штаммами аэробных и анаэробных МКБ: *Lactobacillus plantarum* DSM-20174, *L. perolens* DSM-12744, *L. fermentum* DSM-20391, *L. casei* DSM-20011, *Leuconostoc mesenteroides* subsp. *cremoris* DSM-20200 и *Pediococcus pentosaceus* DSM-20336 [22]. Однако ферментация в течение двух суток усиливала у гидролизата «сырный» запах и кисловатый привкус, присущий МКБ. Гороховый белок, ферментированный с *L. plantarum*, обладал лучшей органолептикой с нейтральным запахом и вкусом по сравнению с другими штаммами, использованными в исследовании. Снижение или нейтрализация привкуса бобовых белков достигнуто и с помощью протеолитических ферментных препаратов микробиологического происхождения [23,24]. При этом степень протеолиза белков ферментами, как правило, должна быть не более 10%, при её превышении вкус горечи, наоборот, усиливается за счет изменения структурной целостности белков и воздействия гидрофобных аминокислотных остатков изолейтина, тирозина, фенилаланина и триптофана [23,25–27]. На горечь гидролизата, помимо степени гидролиза и гидрофобности, влияют также молекулярная масса белков, положение остатков пролина, тип используемых ферментов и аминокислотная последовательность. Тем не менее ферментация микроорганизмами успешно снижает горький и бобовый вкус растительных белков. Например, группа ученых доказала снижение бобового привкуса соевого изолята после 24 и 48 часов ферментации бактериями *Bacillus subtilis* DSM 10, плесенью *Rhizopus oryzae* DSM 2200, дрожжами *Saccharomyces cerevisiae* TMW 3.210 и лактобактериями *L. helveticus* DSM 20075 [28]. Обработка люпинового изолята штаммами лактобактерий *L. reuteri* DSM 20016, *L. brevis* TMW 1.1326, *L. amylophilus* TL 5, *L. parabuchneri* DSM 5987, *L. sakei* subsp. *carneus* DSM 15831, *Staphylococcus xylosum* DSM 20266, *L. helveticus* DSM 20075 и *L. delbrueckii* DSM 20081 также снижала уровень горечи продукта на 15–57% по сравнению с контрольным образцом. Лучшие результаты продемонстрировал продукт, ферментированный *L. brevis* TMW 1.1326, снизив также гороховый аромат изолята в 4,5 раза [29]. При этом ферментированные продукты обладали высокой способностью к пенообразованию и эмульгированию, что говорит и об улучшении их функционально-технологических свойств, определяющих качество белка.

4.2. Улучшение функционально-технологических свойств

Функционально-технологические свойства (ФТС), такие как растворимость, гелеобразование, эмульгирование, пенообразование, водоудерживающая способность и другие, зависят, как правило, от структуры и заряда белка, его молекулярной массы и аминокислотного состава [6,7,30]. Ферментация используется как наиболее эффективный метод модификации ФТС растительных белков [7,31]. Например, ферментация улучшает растворимость соевого белка, водосвязывающую (ВСС) и жиросвязывающую (ЖСС) способности, а также пенообразующие свойства (ПОС) [28]. В то же время растворимость белка и жироземлюющая способность (ЖЭС) горохового изолята снизились после ферментации МКБ, а ПОС и стабильность пены (СП) осталась постоянной по сравнению с необработанным образцом [22]. Увеличенная растворимость, ЖЭС и ПОС наблюдались после твердофазной ферментации белка люпина с использованием *Pediococcus pentosaceus* KTU05–9 в течение 24, 48 и 72 часов [32]. При добавлении в пшеничную муку полученных ферментированных изолятов люпина (3 г/100 г) увеличивалась кислотность, интенсивность цвета и вкуса, а также снижалась твердость выпекаемого хлеба.

Повышение растворимости, ЖСС, ЖЭС и ПОС установлено у соевых изолятов, модифицированных микроорганизмами *Actinomyces elegans* DSM 1174, *Rhizopus oryzae* DSM 2200 и *L. perolens* DSM 12744 и комплексом ферментных препаратов (Alcalase из *Bacillus licheniformis*, Flavourzyme из *Aspergillus oryzae* и папаина) [33]. При этом, как правило, фиксируется снижение ВСС гидролизатов из-за высвобождения гидрофобных аминокислот, взаимодействующих с липидами эмульсий. Обработка изолятов пшеничных отрубей МКБ ферментами, гидролизующими клеточную стенку, и фитазой позволила увеличить растворимость белка. Эмульгирующие свойства не изменились, а стабильность пенообразования увеличилась вдвое [34]. Гидролиз микробными эндопротеазами рисовых белков увеличивал их растворимость, пенообразование и эмульгирование [9]. Использо-

вание отечественных микробных ферментных препаратов протеолитического действия также способствовало увеличению растворимости, ПОС, ЖСС, ЖЭС и стабильности эмульсии (СЭ) растительных белков [21,35]. Некоторые примеры ферментативного гидролиза растительного сырья и его влияние на ФТС белков представлены в Таблице 1.

Специфичность действия ферментов микроорганизмов оказывает различное влияние на длину пептидной цепи, электростатический заряд и вторичную структуру растительных белков [9,24]. Такие модификации могут одновременно влиять на стабильность, поверхностную гидрофобность и биоактивность белковых молекул, увеличивая их усвояемость в организме.

4.3. Повышение усвояемости

Спрос на растительные белки растет, несмотря на некоторые антипитательные свойства, снижающие их усвояемость. Большое количество исследований российских и зарубежных ученых направлено на повышение их усвояемости, сравнимой с животными белками [24,36,37]. Относительно низкая усвояемость растительных белков связана с их высокой молекулярной массой, более сложной последовательностью аминокислот и наличием антипитательных веществ. Модификация микроорганизмами и микробными ферментными препаратами способствует увеличению биодоступности незаменимых аминокислот, снижает молекулярную массу пептидов и подавляет активность антипитательных веществ, тем самым повышая усвояемость растительных белков [38]. Так, доказано значительное повышение усвояемости и сбалансированности аминокислотного состава арахисовой муки после ферментации *B. licheniformis* CGMCC0635 в течение 21 часа при температуре 37 °C [39]. Снижение содержания α-галактозидов, фитиновой кислоты и трудноусвояемых углеводов (рафинозы и стахиозы) в продуктах переработки нута установлено после ферментации штаммами *Pediococcus pentosaceus*

Таблица 1. Условия ферментативной модификации растительных белков и ее влияние на функционально-технологические свойства

Table 1. Conditions of enzymatic modification of plant proteins and its influence on functional and technological properties

Источник белка	Ферментные препараты/микроорганизмы	Условия ферментации (концентрация, pH, температура, продолжительность)	Достигнутые результаты	Источник
Белковые продукты из гороха: изолят, концентрат, белковая мука	Ацидолюкс-А, Ацидолюкс-НП, Alcalase, Neutrase, Flavourzyme	Ацидолюкс-А: 0,5%/г белка, pH 4,0, 50 °C, 180 мин. Ацидолюкс-НП: 0,2%/г белка, pH 7,0, 50 °C, 120 мин. Alcalase: 0,2%/г белка, pH 7,0, 50 °C, 90 мин. Neutrase: 0,2%/г белка, pH 7,0, 50 °C, 150 мин. Flavourzyme: 1,5%/г белка, pH 7,0, 50 °C, 90 мин	Увеличение ПОС, ЖСС и растворимости. Снижение ВСС. При модификации Ацидолюкс-А — рассыпчатая консистенция и светлый цвет гидролизатов	[21]
Гороховый белковый изолят	Бациллолизин, Агропрот, Протозим, Протозим С	Бациллолизин: 8,9 ед./мл, 50 °C, pH 7,0, от 15 до 120 мин. Агропрот: 1,5 ед./мл, 50 °C, pH 5,0, от 15 до 120 мин. Протозим: 1,5 ед./мл, 50 °C, pH 8,0, от 15 до 120 мин. Протозим С: 1,5 ед./мл, 50 °C, pH 8,0, от 15 до 120 мин	Увеличение ЖЭС, СЭ, ПОС, СП и растворимости. Снижение бобового вкуса гидролизатов	[35]
Гороховый белковый концентрат	Protamex, Flavourzyme	1,5 Е/г белка, 50 °C, pH 6,0, 210 мин	Увеличение ПОС, СП, ЖСС и растворимости	[24]
Нутовый белковый изолят	Alcalase	5% к субстрату, pH 8,0, 50 °C, 24 часа	Увеличение ПОС, ЖЭС и растворимости. Снижение СЭ и СП	[9]
Рисовый белковый изолят	Alcalase, Neutrase, Трипсин	Alcalase: 6,67% к субстрату pH 8,0, 50 °C, 240 мин. Neutrase: 6,67% к субстрату, pH 7,0, 50 °C, 240 мин. Трипсин: 6,67% к субстрату, pH 8,0, 50 °C, 240 мин	Увеличение ПОС, ЖЭС, СЭ и растворимости	[9]
Люпиновый белковый изолят, Соевый белковый изолят	Alcalase, Corolase 7089, Corolase 2TS, Corolase N, Flavourzyme, Neutrase, PTN, Папаин, Пепсин, Protamex, Протеаза N-01	Alcalase: 0,5 Е к субстрату, 50 °C, pH 8,0, от 10 до 120 мин. Corolase 7089: 0,5 Е к субстрату, 55 °C, pH 7,0, от 10 до 120 мин. Corolase 2TS: 0,5 Е к субстрату, 70 °C, pH 7,0, от 10 до 120 мин. Corolase N: 0,5 Е к субстрату, 50 °C, pH 7,0, от 10 до 120 мин. Flavourzyme: 0,5 Е к субстрату, 50 °C, pH 6,0, от 10 до 120 мин. Neutrase: 0,5 Е к субстрату, 50 °C, pH 6,5, от 10 до 120 мин. PTN: 0,5 Е к субстрату, 50 °C, pH 9,0, от 10 до 120 мин. Папаин: 0,2 Е к субстрату, 80 °C, pH 7,0, от 10 до 120 мин. Пепсин: 0,5 Е к субстрату, 50 °C, pH 2,0, от 10 до 120 мин. Protamex: 0,5 Е / к субстрату, 60 °C, pH 8,0, от 10 до 120 мин. Протеаза N-01: 0,5 Е к субстрату, 55 °C, pH 7,2, от 10 до 120 мин.	Увеличение ЖСС, ЖЭС и ПОС и растворимости. При модификации Flavourzyme и папаином — снижение горечи гидролизатов	[31,33]
Белковый изолят пшеничных отрубей	<i>L. brevis</i> , <i>L. plantarum</i> , <i>S. cerevisiae</i> , Viscoferm, Bel'ase, Фитаза	<i>L. brevis</i> , <i>L. plantarum</i> , <i>S. cerevisiae</i> : соотношение к отрубям 1:1000, 35 °C pH 5,6, 8 часов. Viscoferm, Bel'ase: 500 нкат/г отрубей, 35 °C pH 5,6, 8 часов. Фитаза: 250 нкат/г отрубей, 35 °C pH 5,6, 8 часов	Увеличение стабильности пены и растворимости	[34]
Семена конопли	Ксиланаза, Протеаза	Ксиланаза: 1,0%/г клетчатки, 30 °C, 24 часа. Протеаза: 2,5%/г белка, 30 °C, 24 часа	Увеличение растворимости и высвобождение биоактивных пептидов	[9]
Шрот семян тыквы, Шрот семян подсолнечника	<i>L. rhamnosus</i> , <i>L. casei</i>	3–5% к субстрату, 37 °C, 10 часов	Увеличение растворимости	[18,19]

и *Pediococcus acidilactici* [40]. Ферментированный МКБ гороховый изолят показал повышенную усвояемость, снижение молекулярной массы и изменение вторичной структуры белков, что указывает на его улучшенную биодоступность по сравнению с контрольным образцом [41].

Доказано улучшение усвояемости ферментированных растительных белков за счет снижения антипитательных факторов. Например, содержание конденсированных танинов в 19 сортах бобовых культур (горох, нут, фасоль, чечевица, чина) снижено путем ферментации *L. plantarum* C48 и *L. brevis* AM7 при температуре 30 °C в течение суток [42]. Кроме того, ферментация конских бобов с *L. plantarum* VTT E-133328 способствовала снижению содержания алкалоидов (вицина и конвизина), активности ингибитора трипсина и конденсированных танинов, а также увеличению содержания ненасыщенных жирных кислот, незаменимых аминокислот и γ -аминомасляной кислоты [43]. Схожим образом достигнута повышенная усвояемость белка для семян конопли, ферментированных с использованием *L. plantarum* 18S9 и *Leuconostoc mesenteroides* 12MM1 [44]. Содержание фитиновой кислоты и ингибирующей активности трипсина снижены и в гороховой муке, обработанной *L. plantarum* DSM 20174 [9]. В другой работе ферментация пророщенных зерен пшеницы, ячменя, нута, чечевицы и киноа с помощью *L. sanfranciscensis* DE9, *L. plantarum* 1A7 и *L. rossiae* LB5 снижала содержание рафинозы, фитиновой кислоты, ингибиторов трипсина и конденсированных танинов [45]. С помощью ферментации бактериями *L. rhamnosus* и *L. casei* шрота семян тыквы и подсолнечника в течение 10 часов при температуре 37 °C удалось получить лактоферментированные продукты с повышенным содержанием ненасыщенных жирных кислот (в 2,3 раза), белка (в 1,7 раза) и без лактозы. Результаты сравнивали с кисломолочным продуктом, полученным сквашиванием молока в аналогичных условиях [18,19]. Доказана увеличенная усвояемость белка пшеничных отрубей, подвергнутых комбинированной обработке заквасками (*L. brevis* E-95612 и *Candida humilis* E-96250) и микробными ферментами, разрушающими клеточную стенку (Depol 761P и Viscoferm) [20]. Поэтапная обработка ферментами микробиологического происхождения амилалитического (Fungamyl 800 L), целлюлолитического (Viscoferm L), ксиланазного (Shearzym 500 L), глюкоамилазного (AMG 300 L 2500) и протеолитического (Alcalase 2,4 L FG) действия также способствовала увеличению перевариваемости *in vitro* горохового и нутевого белка выше яичного альбумина [24].

4.4. Снижение аллергенности

Аллергены растительных белков, которые зачастую более опасны для здоровья человека, чем другие виды пищевых аллергенов, являются одной из главных проблем, ограничивающих применение растительных белков в пищевой и фармацевтической промышленности [9]. Физико-химические термические (кипячение, микроволновой и омический нагрев) и нетермические (обработка холодной плазмой, высоким давлением, ультразвуком и облучением) методы модификации позволяют снизить или нейтрализовать активность аллергенов, но приводят к чрезмерному разрушению молекул белков. Ферментативная модификация ограниченным протеолизом способна инактивировать аллергены растительных белков путем направленной деградации аллергенных эпитопных последовательностей в их первичной и вторичной структурах [13].

Коллектив ученых сообщил о сниженной иммунореактивности изолята соевого белка после ферментации с использованием *B. subtilis*, *Rh. oryzae*, *Sacch. cerevisiae* и *L. helveticus* [28]. Среди оцениваемых штаммов микроорганизмов *L. helveticus* DSM 20075 оказался наиболее эффективным, снизив до 100% иммунореактивность соевого белка. Ферментативная обработка 8 штаммами лактобактерий *L. plantarum* также снижала реактивность аллергена иммуноглобулина E соевого белка на 83,8–94,8% [46]. Авторы связывают данное снижение аллергенности с появлением низкомолекулярных (< 10 кДа) пептидов, с увеличением в 1,6–3,3 раза поверхностной гидрофобности, а также с появлением во вторичной структуре белков β -цепи во всех ферментированных образцах. В другом исследовании соевый шрот ферментировали консорциумом *B. subtilis* CICC20641, *L. casei* CGMCC1.539 и дрожжей в соотношении 2:1:1 с использованием твердофазной ферментации при 30 °C в течение 72 часов [47]. Установлено значительное снижение содержания аллергена в соевом шроте после ферментации, что было связано с расщеплением аллергенных эпитопных последовательностей β -конглианина (7S) и глицинина (11S) на полипептиды и пептиды с меньшей молекулярной массой. Снижение иммунореактивности β -конглианина и глицина зафиксировано и в соевом молоке после ферментации *Enterococcus faecalis* VB43 при 37 °C в течение 24 часов [15]. Другая группа ученых

снизила аллергенность соевого молока ферментацией лактобактериями *L. brevis* CICC23.474 и *L. brevis* CICC23.470 [17]. Белки пшеницы и ржи, содержащие иммуноглобулин E (альбумины, глобулины и глиадины), разрушались на пептиды после ферментации с несколькими видами МКБ, включая *L. brevis* 14G, *L. sanfranciscensis* 7A, *L. alimentarius* 15M и *L. hilgardii* 51. Эффективно гидролизировал аллерген пшеницы (глиадин) и выделенный из ферментированной пшеницы *E. faecalis* [9]. Кроме того, содержание глиадинов и глютеинов в пшенице снизилось после ферментации 9 штаммами *E. faecalis* и *L. lactis* с наибольшей деградацией основных аллергенных белков глютена при обработке штаммом *L. lactis* LLGK18 при 37 °C в течение 24 часов [16]. Результаты электрофореза горохового изолята, обработанного шестью различными штаммами МКБ, показали снижение аллергенных белковых фракций, в сравнении с контролем [22].

4.5. Повышение антиоксидантной активности

Клинические исследования доказали взаимосвязь окислительного стресса в организме, вызванного активными формами кислорода, и развития хронических заболеваний, включая сахарный диабет, ревматоидный артрит и рак [48]. В настоящее время пищевая промышленность заинтересована в производстве натуральных продуктов с высокими антиоксидантными свойствами из-за их способности ингибировать окислительную дегенерацию макромолекул жиров, увеличивать срок годности и качество готового продукта [49]. Биоактивные пептиды демонстрируют различные антиоксидантные свойства, которые зависят от их конформационной структуры, аминокислотного состава и поверхностной гидрофобности. Например, среди изученных 20 аминокислот гистидин, триптофан, метионин, лизин, аргинин, цистеин и тирозин проявили более сильную антиоксидантную активность [50]. Показано, что ферментативные гидролизаты горохового белка проявляют антиоксидантную активность в отношении перекисного окисления линоленовой кислоты [51]. Также сообщается, что ферментированные *B. licheniformis* белки арахисовой муки обладали повышенной антиоксидантной активностью, а также активностью захвата радикалов 1,1-дифенил-2-пикрилгидразила и гидроксильных радикалов [39]. Несмотря на это, растительное сырье, в зависимости от культуры и сорта, может обладать высокой антиоксидантной активностью. При изучении изолятов белков фасоли, маша, желтой и черной сои у фасоли была выявлена самая высокая антиоксидантная активность (удаление гидроксильных радикалов) и наибольшая растворимость. Белок маша характеризовался высоким содержанием незаменимых аминокислот, а белок черной сои — низким уровнем гидрофобных аминокислот, что обуславливает его высокую водосвязывающую способность. Антиоксидантная активность всех образцов возрастала с увеличением концентрации белка в растворе от 0,2 до 1,0 мг/мл. Исходные и модифицированные микроорганизмами растительные белки с увеличенной антиоксидантной активностью проявляют ингибирующее действие против раковых клеток организма [52].

4.6. Повышение противоопухолевой активности

Биоактивные пептиды способны функционировать как носители цитотоксических агентов, ингибируя специфические молекулярные сигнальные пути раковых клеток, связанные с механизмом онкогенеза, подавлять самовосстановление и дифференциацию раковых стволовых клеток [50]. Таким образом, они могут применяться как в качестве противоопухолевых препаратов. Так, установлена ингибиторная активность белков фасоли, маша, желтой и черной сои на клеточную линию рака яичников SKOV3 и клетки гепатоцеллюлярной карциномы печени SMMC-7721 при концентрации белков в растворе от 200 до 800 мкг/мл. Белок черной сои демонстрировал наибольшее ингибирование раковых клеток среди других образцов — до 69% на SKOV3 при концентрации 600 мкг/мл и до 7% — на SMMC-7721 при концентрации 800 мкг/мл. Полученные результаты авторы объяснили наличием большого количества в черной сое белков с молекулярной массой 36 кДа, которые идентифицируются как углеводсвязывающие (лектины) и способные ингибировать активность линий раковых клеток HONE1, HepG2 и MCF7 [52]. В другом исследовании установлены противоопухолевые свойства пептидов киноа на линии клеток колоректального рака толстой кишки [53]. Гидролизаты амаранта, полученные *in vitro* моделированием пищеварения в желудочно-кишечном тракте, проявляли улучшенную антиоксидантную активность и подавляли рост клеток рака молочной железы на 50% при концентрации 48,3 мкг/мл, вызывая их апоптоз и снижение миграционной активности [54]. Установлено, что гидролизированные из оливы пептиды с молекулярной массой менее 3 кДа проявляют антигипертензивные свойства при концентрации $29,6 \pm 0,5$ мкг/мл

в модели *in vitro*. При этом фракционированный из данного гидролизата пептид (LLPSY) обладал антипролиферативной активностью в отношении клеток рака груди MDAMB-468 и рака простаты PC-3, снижая их миграционную способность и останавливая клеточный цикл в фазе S при синтезе ДНК [55].

4.7. Повышение противодиабетической активности

Биоактивные пептиды растительных белков, полученные ферментативным гидролизом, оказывают противодиабетическое действие на организм человека, что делает их перспективной альтернативой синтетическим противодиабетическим препаратам. Например, установлено ингибирование дипептидилпептидазы IV пептидами, полученными гидролизом растительных белков (соя, люпин и др.), что приводило к снижению уровня глюкозы в крови и способствовало нормализации уровня вырабатываемого организмом инсулина [51,56]. Кроме этого, важной частью контроля диабета является потребление пищевых ингредиентов, ингибирующих действие ферментов α -амилазы и α -глюкозидазы, которые быстро расщепляют молекулы поступающих углеводов с высвобождением большого количества глюкозы. Обработкой белков гороха протеолитическим ферментом термоазой, полученного из *B. stearothermophilus*, удалось получить пептиды с увеличенной противодиабетической активностью [57]. Установлено, что пептиды с различной молекулярной массой (<1, 1–3, 3–5, 5–10, >10 кДа) подавляли активность α -амилазы и α -глюкозидазы методом *in vitro*, среди которых наибольшую эффективность демонстрировали пептиды массой 3–5 и >10 кДа.

4.8. Увеличение минералосвязывающей активности

Минеральные вещества, включая железо, медь, цинк, марганец и кальций, являются важными неорганическими микроэлементами, необходимыми для поддержания здоровья человека [58]. Минералосвязывающие пептиды гидролизатов растительных белков могут использоваться в качестве минеральных добавок для предотвращения их дефицита в организме [59]. В настоящее время получен и идентифицирован широкий спектр пептидов, хелатирующих металлы [9,52,60–63]. Так, доказано, что пентапептид FVDVT (Фенилаланин-Валин-Аспарагин-Валин-Треонин) из гидролизата белка пшеницы проявил улучшенную кальцийсвязывающую активность на 86,37% по сравнению с контролем, составив $89,94 \pm 0,75\%$ [61]. Кальций является строительным материалом для зубов и костей, участвует в проведении нервных импульсов, регуляции давления, транспорте ионов, свертывании крови. Полученные результаты показали, что атомы кислорода карбоксильных групп и атомы азо-

та амидных групп аминокислот обеспечивали основную связку с кальцием. Кроме того, среди аминокислот лучшую связку с кальцием демонстрировали аспарагиновая кислота и треонин. В другой работе получены железосвязывающие пептиды VEDELVAVV (11S леугмин) и LAGNPDEFRPQ из вторичного продукта переработки грецкого ореха — обезжиренной стружки [62]. Железо является частью гемоглобина эритроцитов, миоглобина мышц, ферритина печени и функционирует как кофактор для различных ферментов. Пентапептиды PAIDL и LLGIL, выделенные из гидролизата белка маша, продемонстрировали более высокую антиоксидантную активность и способность хелатировать железо по сравнению с гепта- и октапептидами. В связи с этим предполагается, что короткие пептидные цепи (например, пентапептиды) эффективнее образуют хелатные комплексы с железом, чем более длинные [63]. При исследовании белков четырех растительных культур установлена высокая способность к хелатированию железа у фасоли при концентрации 156 мкг/мл с распределением минералосвязывающей активности белков по убыванию: фасоль > черная соя > маш > желтая соя [52].

5. Выводы

Улучшению конкурентоспособности животных источников белков и удовлетворению спроса на растительные белковые продукты с высокой биологической ценностью способствуют биотехнологические методы (ферментация микроорганизмами, обработка ферментными препаратами) модификации. Они изменяют структуру, поверхностно-активные и биофизические свойства растительных белков для увеличения их усвояемости, функциональности, органолептических показателей и с целью снижения аллергенности. Кроме того, ферментативная модификация растительных белков используется для разработки функциональных ингредиентов с полезными для здоровья биоактивными пептидами, проявляющими антиоксидантные, антипролиферативные, антидиабетические и минералосвязывающие свойства. Высокая специфичность, воспроизводимость, низкая себестоимость и экологичность ферментативного гидролиза являются преимуществами биотехнологического метода, по сравнению с химическими и физико-химическими способами модификации. Такие факторы модификации, как тип фермента, его концентрация, степень гидролиза и источник белка, должны учитываться для получения продукта высокого качества. В противном случае ферментативная модификация способствует нежелательным изменениям — снижению функционально-технологических свойств и ухудшению органолептических показателей гидролизатов.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК / REFERENCES

- Singhal, A., Karaca, A.C., Tyler, R., Nickerson, M. (2016). Pulse Proteins: From Processing to Structure-Function Relationships. Chapter in a book: Grain Legumes. InTechOpen, 2016. <https://doi.org/10.5772/64020>
- Жихарёва, В. (2023). Вместо молока и мяса: почему растительные протеины становятся популярнее. Электронный ресурс: <https://plus-one.ru/manual/2023/07/14/vmesto-moloka-i-myasa> Дата обращения: 09.09.2024. [Zhikhareva, V. (2023). Instead of milk and meat: Why plant proteins are becoming increasingly popular. Retrieved from: <https://plus-one.ru/manual/2023/07/14/vmesto-moloka-i-myasa> Accessed September 09, 2024. (In Russian)]
- Редакторская статья. (2017). Протеины: новое в технологии производства и возможности использования. *Комбикорма*, 10, 59–62. [Editorial article. (2017). Proteins: New in the production technology and possibilities of using. *Combined Feed*, 10, 59–62. (In Russian)]
- Webber, J. (2023). How many CO₂ emissions does the meat industry actually produce? Plant based news. Retrieved from: <https://plantbasednews.org/opinion/the-long-read/emissions-meat-industry> Accessed September 09, 2024.
- Ismail, B.P., Senaratne-Lenagala, L., Stube, A., Brackenridge, A. (2020). Protein demand: Review of plant and animal proteins used in alternative protein product development and production. *Animal Frontiers*, 10(4), 53–63. <https://doi.org/10.1093/af/vfaa040>
- Куликов, Д.С., Аксёнова, Л.М., Самойлова, А.М. (2024). Функционально-технологические свойства белковых продуктов из зернобобовых культур и их модификация под влиянием различных факторов. Часть 1. *Пищевая промышленность*, 3, 20–25. [Kulikov, D.S., Akseanova, L.M., Samoylova, A.M. (2024). Functional properties of protein products from grain legumes and their modification under the influence of various factors. Part 1. *Food Industry*, 3, 20–25. (In Russian)] <https://doi.org/10.52653/PPI.2024.3.3.004>
- Куликов, Д.С., Королев, А.А. (2024). Функционально-технологические свойства белковых продуктов из зернобобовых культур и их модификация под влиянием различных факторов. Часть 2. *Пищевая промышленность*, 8, 35–44. [Kulikov, D.S., Korolev, A.A. (2024). Functional properties of protein products from grain legumes and their modification under the influence of various factors. Part 2. *Food Industry*, 8, 35–44. (In Russian)] <https://doi.org/10.52653/PPI.2024.8.8.007>
- Nasrabadi, M.N., Doost, A.S., Mezzenga, R. (2021). Modification approaches of plant-based proteins to improve their techno-functionality and use in food products. *Food Hydrocolloids*, 118, Article 106789. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2021.106789>
- Olatunde, O.O., Owolabi, I.O., Fadairo, O.S., Ghosal, A., Coker, O.J., Soladaye, O.P. et al. (2022). Enzymatic modification of plant proteins for improved functional and bioactive properties. *Food and Bioprocess Technology*, 16, 1216–1234. <https://doi.org/10.1007/s11947-022-02971-5>
- Meinlschmidt, P., Schweiggert-Weisz, U., Eisner, P. (2016). Soy protein hydrolysates fermentation: Effect of debittering and degradation of major soy allergens. *LWT — Food Science and Technology*, 71, 202–212. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2016.03.026>
- Куликов, Д.С., Арюзина, М.А. (2021). Биокаталический и биосинтетический способы получения белковых концентратов из гороха и нута. *Пищевые системы*, 4(3S), 160–167. [Kulikov, D.S., Aryuzina, M.A. (2021). Biocatalytic and biosynthetic methods of obtaining protein concentrates from peas and chickpeas. *Food Systems*, 4(3S), 160–167. (In Russian)] <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2021-4-3S-160-167>
- Aondona, M.M., Ikeya, J.K., Ukeyima, M.T., Gborigo, T.-w. J.A., Aluko, R.E., Girgih, A.T. (2021). In vitro antioxidant and antihypertensive properties of sesame seed enzymatic protein hydrolysate and ultrafiltration peptide fractions. *Journal of Food Biochemistry*, 45(1), Article e13587. <https://doi.org/10.1111/jfbc.13587>
- Fadimu, G., Olatunde, O., Bandara, N., Truong, T. (2022). Reducing allergenicity in plant-based proteins. Chapter in a book: Engineering Plant-Based Food Systems. Academic Press, 2022. <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-89842-3.00012-9>
- Kieliszek, M., Pobiega, K., Piwowarek, K., Kot, A.M. (2021). Characteristics of the proteolytic enzymes produced by lactic acid bacteria. *Molecules*, 26(7), Article 1858. <https://doi.org/10.3390/molecules26071858>
- Biscola, V., de Olmos, A.R., Choiset, Y., Rabesona, H., Garro, M.S., Mozzi, F. et al. (2017). Soy milk fermentation by *Enterococcus faecalis* VB43 leads to reduction in the immunoreactivity of allergenic proteins β -conglycinin (7S) and glycinin (11S). *Beneficial Microbes*, 8(4), 635–643. <https://doi.org/10.3920/BM2016.0171>
- El Mecherfi, K.-E., Lupi, R., Cherkaoui, M., Albuquerque, M.A.C., Todorov, S.D., Tranquet, O. et al. (2022). Fermentation of gluten by *Lactococcus lactis* LLGK18 reduces its antigenicity and allergenicity. *Probiotics and Antimicrobial Proteins*, 14(5), 779–791. <https://doi.org/10.1007/s12602-021-09808-1>
- Lu, Q., Zhuo, L., Wu, Z., Li, X., Tong, P., Wu, Y. et al. (2022). Characterization of the protein structure of soymilk fermented by *Lactobacillus* and evaluation of its

- potential allergenicity based on the sensitized-cell model. *Food Chemistry*, 366, Article 130569. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.130569>
18. Sineelnikov, A.V., Kolganova, T. V. Ulanova, R.V. (2024). Obtaining analogues of fermented milk products from seed meal using new strains of lactic acid bacteria. *Applied Biochemistry and Microbiology*, 60, 476–482. <https://doi.org/10.1134/S0003683824603664>
 19. Синельников, А.В., Уланова, Р.В., Канапатский, Т.А. (2024). Разработка технологии получения лактоферментированных продуктов на основе растительного материала. *Пищевая промышленность*, 8, 75–80. [Sineelnikov, A.V., Ulanova, R.V., Kanapatsky, T.A. (2024). Development of technology for obtaining lacto-fermented products based on plant material. *Food Industry*, 8, 75–80. (In Russian)] <https://doi.org/10.52653/PPI.2024.8.8.014>
 20. Arte, E., Rizzello, C.G., Verni, M., Nordlund, E., Katina, K., Coda, R. (2015). Impact of enzymatic and microbial bioprocessing on protein modification and nutritional properties of wheat bran. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 63(39), 8685–8693. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.5b03495>
 21. Куликов, Д.С., Калугина, З.И., Ермолаева, М.Д., Шевченко, С.Е., Бызов, В.А. (2024). Модификация функционально-технологических свойств белковых продуктов из гороха отечественными бактериальными протеазами. *Пищевая промышленность*, 8, 93–101. [Kulikov, D.S., Kalugina, Z.I., Ermolaeva, M.D., Shevchenko, S.E., Byuzov, V.A. (2024). Modification of functional and technological properties of protein products from peas by domestic bacterial proteases. *Food Industry*, 8, 93–101. (In Russian)] <https://doi.org/10.52653/PPI.2024.8.8.018>
 22. Arteaga, V. G., Leffler, S., Muranyi, I., Eisner, P., Schweiggert-Weisz, U. (2020). Sensory profile, functional properties and molecular weight distribution of fermented pea protein isolate. *Current Research in Food Science*, 4, 1–10. <https://doi.org/10.1016/j.crfs.2020.12.001>
 23. Kravchenko, I.V., Furalyov, V.A., Pshennikova, E.S., Kostyleva, E. V., Sereda, A. S., Kurbatova, E. I. et al. (2024). The effect of various domestically produced proteolytic enzyme preparations on the organoleptic properties of pea protein isolates. *Applied Biochemistry and Microbiology*, 60, 656–662. <https://doi.org/10.1134/S0003683824604335>
 24. Колпакова, В.В., Куликов, Д.С., Гулакова, В.А., Уланова, Р.В., Бессонов, В.В. (2024). Кисломолочный продукт функционального назначения с гороховым концентратом. *Пищевая промышленность*, 6, 126–132. [Kolpakova, V.V., Kulikov, D.S., Gulakova, V.A., Ulanova, R.V., Bessonov, V.V. (2024). Fermented milk product for functional purposes with pea concentrate. *Food Industry*, 6, 126–132. (In Russian)] <https://doi.org/10.52653/PPI.2024.6.6.026>
 25. Akharume, F. U., Aluko, R. E., Adedeji, A. A. (2021). Modification of plant proteins for improved functionality: A review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 20(1), 198–224. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12688>
 26. Idowu, A. T., Benjakul, S. (2019). Bitterness of fish protein hydrolysate and its debittering prospects. *Journal of Food Biochemistry*, 43(9), Article e12978. <https://doi.org/10.1111/jfbc.12978>
 27. Eckert, E., Han, J., Swallow, K., Tian, Z., Jarpa-Parra, M., Chen, L. (2019). Effects of enzymatic hydrolysis and ultrafiltration on physicochemical and functional properties of faba bean protein. *Cereal Chemistry*, 96(4), 725–741. <https://doi.org/10.1002/cche.10169>
 28. Meinschmidt, P., Ueberham, E., Lehmann, J., Schweiggert-Weisz, U., Eisner, P. (2016). Immunoreactivity, sensory and physicochemical properties of fermented soy protein isolate. *Food Chemistry*, 205, 229–238. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.03.016>
 29. Schlegel, K., Leidigkei, A., Eisner, P., Schweiggert-Weisz, U. (2019). Technofunctional and sensory properties of fermented lupin protein isolates. *Foods*, 8(12), Article 678. <https://doi.org/10.3390/foods8120678>
 30. Singh T. P., Siddiqi R. A., Sogi D. S. (2021). Enzymatic modification of rice bran protein: Impact on structural, antioxidant and functional properties. *LWT*, 138, Article 110648. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.110648>
 31. Schlegel, K., Sontheimer, K., Hickisch, A., Wani, A. A., Eisner, P., Schweiggert-Weisz, U. (2019). Enzymatic hydrolysis of lupin protein isolates – Changes in the molecular weight distribution, technofunctional characteristics, and sensory attributes. *Food Science and Nutrition*, 7(8), 2747–2759. <https://doi.org/10.1002/fsn3.1139>
 32. Klupsaitė D., Juodeikiene G., Zadeike, D., Bartkiene, E., Maknickiene, Z., Liutkute, G. (2017). The influence of lactic acid fermentation on functional properties of narrow-leaved lupine protein as functional additive for higher value wheat bread. *LWT*, 75, 180–186. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2016.08.058>
 33. Meinschmidt, P., Sussmann, D., Schweiggert-Weisz, U., Eisner, P. (2015). Enzymatic treatment of soy protein isolates: Effects on the potential allergenicity, technofunctionality, and sensory properties. *Food Science and Nutrition*, 4(1), 11–23. <https://doi.org/10.1002/fsn3.253>
 34. Arte, E., Huang, X., Nordlund, E., Katina, K. (2019). Biochemical characterization and technofunctional properties of bioprocessed wheat bran protein isolates. *Food Chemistry*, 289, 103–111. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.03.020>
 35. Kravchenko, I.V., Furalyov, V.A., Kostyleva, E.V., Sereda, A.S., Kurbatova, E.I., Tsurikova, N.V. et al. (2024). Effect of different classes of proteases on the techno-functional properties of pea protein isolates. *Applied Biochemistry and Microbiology*, 60, 106–117. <https://doi.org/10.1134/S0003683824010083>
 36. Joshi, P., Varma, K. (2016). Effect of germination and dehulling on the nutritive value of soybean. *Nutrition and Food Science*, 46(4), 595–603. <https://doi.org/10.1108/NFS-10-2015-0123>
 37. Pal, R.S., Bhartiya, A., ArunKumar, R., Kant, L., Aditya, J.P., Bisht, J.K. (2016). Impact of dehulling and germination on nutrients, antinutrients, and antioxidant properties in horsegram. *Journal of Food Science and Technology*, 53(1), 337–347. <https://doi.org/10.1007/s13197-015-2037-3>
 38. Tapal, A., Tikku, P.K. (2019). Nutritional and Nutraceutical Improvement by Enzymatic Modification of Food Proteins. Chapter in a book: *Enzymes in Food Biotechnology. Production, Applications, and Future Prospects*. Academic Press, 2019. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-813280-7.00027-X>
 39. Yang, X., Teng, D., Wang, X., Guan, Q., Mao, R., Hao, Y. et al. (2016). Enhancement of nutritional and antioxidant properties of peanut meal by bio-modification with bacillus licheniformis. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 180(6), 1227–1242. <https://doi.org/10.1007/s12010-016-2163-z>
 40. Xing, Q., Dekker, S., Kyriakopoulou, K., Boom, R.M., Smid, E.J., Schutyser, M.A.I. (2020). Enhanced nutritional value of chickpea protein concentrate by dry separation and solidstate fermentation. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 59, Article 102269. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2019.102269>
 41. Kim, H.D., Lee, K.S., Lee, K.E., Suh, H.J., Kim, B.-Y. (2023). Improved digestibility and bioavailability of pea protein following enzymatic treatment and fermentation by lactic acid bacteria. *Food Science and Biotechnology*, 33(3), 607–615. <https://doi.org/10.1007/s10068-023-01335-9>
 42. Curiel, J.A., Coda, R., Centomani, I., Summo, C., Gobetti, M., Rizzello, C.G. (2015). Exploitation of the nutritional and functional characteristics of traditional Italian legumes: The potential of sourdough fermentation. *International Journal of Food Microbiology*, 196, 51–61. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2014.11.032>
 43. Coda, R., Melama, L., Rizzello, C.G., Curiel, J.A., Sibakov, J., Holopainen, U. et al. (2015). Effect of air classification and fermentation by *Lactobacillus plantarum* VTT E-133328 on faba bean (Vicia faba L.) flour nutritional properties. *International Journal of Food Microbiology*, 193, 34–42. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2014.10.012>
 44. Pontonio, E., Verni, M., Dingeo, 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>
 45. Montemurro, M., Pontonio, E., Gobetti, M., Rizzello, C.G. (2019). Investigation of the nutritional, functional and technological effects of the sourdough fermentation of sprouted flours. *International Journal of Food Microbiology*, 302, 47–58. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2018.08.005>
 46. Rui, X., Huang, J., Xing, G., Zhang, Q., Li, W., Dong, M. (2019). Changes in soy protein immunoglobulin E reactivity, protein degradation, and conformation through fermentation with *Lactobacillus plantarum* strains. *LWT*, 99, 156–165. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2018.09.034>
 47. Yang, A., Zuo, L., Cheng, Y., Wu, Z., Li, X., Tong, P. et al. (2018). Degradation of major allergens and allergenicity reduction of soybean meal through solid-state fermentation with microorganisms. *Food and Function*, 9(3), 1899–1909. <https://doi.org/10.1039/c7fo01824j>
 48. Ibrahim, H.R., Isono, H., Miyata, T. (2018). Potential antioxidant bioactive peptides from camel milk proteins. *Animal Nutrition*, 4(3), 273–280. <https://doi.org/10.1016/j.aninu.2018.05.004>
 49. Nwachukwu, I.D., Aluko, R.E. (2019). Structural and functional properties of food protein-derived antioxidant peptides. *Journal of Food Biochemistry*, 43(1), Article e12761. <https://doi.org/10.1111/jfbc.12761>
 50. Xu, N., Chen, G., Liu, H. (2017). Antioxidative categorization of twenty amino acids based on experimental evaluation. *Molecules*, 22(12), Article 2066. <https://doi.org/10.3390/molecules22122066>
 51. Samtiya, M., Acharya, S., Pandey, K.K., Aluko, R.E., Udenigwe, C.C., Dhewa, T. (2021). Production, purification, and potential health applications of edible seeds' bioactive peptides: A concise review. *Foods*, 10(11), Article 2696. <https://doi.org/10.3390/foods10112696>
 52. Chen, Z., Wang, J., Liu, W., Chen, H. (2017). Physicochemical characterization, antioxidant and anticancer activities of proteins from four legume species. *Journal of Food Science and Technology*, 54(4), 964–972. <https://doi.org/10.1007/s13197-016-2390-x>
 53. Vilcacundo, R., Miralles, B., Carrillo, W., Hernández-Ledesma, B. (2018). In vitro chemopreventive properties of peptides released from quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) protein under simulated gastrointestinal digestion. *Food Research International*, 105, 403–411. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2017.11.036>
 54. Taniya, M.S., Reshma, M.V., Shanmoli, P.S., Krishnan, G., Priya, S. (2020). Bioactive peptides from amaranth seed protein hydrolysates induced apoptosis and antimigratory effects in breast cancer cells. *Food Bioscience*, 35, Article 100588. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2020.100588>
 55. Vázquez-Villanueva, R., Muñoz-Moreno, L., Carmena, M.J., Marina, M.L., García, M.C. (2018). In vitro antitumor and hypotensive activity of peptides from olive seeds. *Journal of Functional Foods*, 42, 177–184. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2017.12.062>
 56. Lamm, C., Zanon, C., Arnoldi, A., Vistoli, G. (2016). Peptides derived from soy and lupin protein as dipeptidyl-peptidase IV inhibitors: In vitro biochemical screening and in silico molecular modeling study. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 64(51), 9601–9606. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.6b04041>
 57. Olagunju, A.I., Omoba, O.S., Enujiugha, V.N., Alashi, A.M., Aluko, R.E. (2021). Thermoase-hydrolysed pigeon pea protein and its membrane fractions possess in vitro bioactive properties (antioxidative, antihypertensive, and antidiabetic). *Journal of Food Biochemistry*, 45(3), Article e13429. <https://doi.org/10.1111/jfbc.13429>
 58. Silva, C.S., Moutinho, C., Vinha, A.F., Matos, C. (2019). Trace minerals in human health: Iron, Zinc, Copper, Manganese and Fluorine. *International Journal of Science and Research Methodology*, 13(3), 57–80.
 59. Caetano-Silva, M.E., Netto, F.M., Bertoldo-Pacheco, M.T., Alegria, A., Cilla, A. (2021). Peptide-metal complexes: Obtention and role in increasing bioavailability and decreasing the pro-oxidant effect of minerals. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 61(9), 1470–1489. <https://doi.org/10.1080/10408398.2020.1761770>
 60. Cui, P., Lin, S., Jin, Z., Zhu, B., Song, L., Sun, N. (2018). In vitro digestion profile and calcium absorption studies of a sea cucumber ovum derived heptapeptide-calcium complex. *Food and Function*, 9(9), 4582–4592. <https://doi.org/10.1039/C8FO00910D>
 61. Wang, L., Ding, Y., Zhang, X., Li, Y., Wang, R., Luo, X. et al. (2018). Isolation of a novel calcium-binding peptide from wheat germ protein hydrolysates and the prediction for its mechanism of combination. *Food Chemistry*, 239, 416–426. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.06.090>
 62. Lv, Y., Wei, K., Meng, X., Huang, Y., Zhang, T., Li, Z. (2017). Separation and identification of iron-chelating peptides from defatted walnut flake by nanoLC-ESI-MS/MS and de novo sequencing. *Process Biochemistry*, 59(Part B), 223–228. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2017.05.010>
 63. Chunkao, S., Youravong, W., Yupanqui, C.T., Alashi, A.M., Aluko, R.E. (2020). Structure and function of mung bean protein-derived iron-binding antioxidant peptides. *Foods*, 9(10), Article 1406. <https://doi.org/10.3390/foods9101406>

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ		AUTHOR INFORMATION	
Принадлежность к организации		Affiliation	
Куликов Денис Сергеевич — кандидат технических наук, старший научный сотрудник, лаборатория процессов и оборудования консервного производства, Всероссийский научно-исследовательский институт технологии консервирования 142703, Московская область, Видное, ул. Школьная, 78 Тел.: +7-903-709-81-23 E-mail: d.kulikov@fncps.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0003-2171-0522 * автор для контактов		Denis S. Kulikov , Candidate of Technical Sciences, Senior Researcher, Laboratory of Processes and Equipment for Canning Production, Russian Research Institute of Canning Technology 78, Shkol'naya str., 142703, Vidnoe, Moscow region, Russia Tel.: +7-903-709-81-23 E-mail: d.kulikov@fncps.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0003-2171-0522 * corresponding author	
Королев Алексей Александрович — кандидат технических наук, заведующий лабораторией процессов и оборудования консервного производства, Всероссийский научно-исследовательский институт технологии консервирования 142703, Московская область, Видное, ул. Школьная, 78 Тел.: +7-926-113-19-08 E-mail: a.korolev@fncps.ru ORCID: http://orcid.org/0000-0002-7144-2522		Alexey A. Korolev , Candidate of Technical Sciences, Head of the Laboratory of Processes and Equipment for Canning Production, Russian Research Institute of Canning Technology 78, Shkol'naya str., 142703, Vidnoe, Moscow region, Russia Tel.: +7-926-113-19-08 E-mail: a.korolev@fncps.ru ORCID: http://orcid.org/0000-0002-7144-2522	
Критерии авторства		Contribution	
Авторы в равных долях имеют отношение к написанию рукописи и одинаково несут ответственность за плагиат.		The author has the sole responsibility for writing the manuscript and is responsible for plagiarism.	
Конфликт интересов		Conflict of interest	
Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.		The authors declare no conflict of interest.	

DOI: <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2025-8-1-29-35>

Поступила 21.10.2024

Поступила после рецензирования 21.02.2025

Принята в печать 25.02.2025

© Утьянов Д. А., Вострикова Н. Л., Василевская Е. Р., Куликовский А. В., Карабанов С. Ю., 2025



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

Обзорная статья

Open access

ХИМИЧЕСКИЕ КОНТАМИНАНТЫ, ПОПАДАЮЩИЕ В ПИЩЕВУЮ ПРОДУКЦИЮ ИЗ ПОЛИМЕРНОЙ УПАКОВКИ. ОБЗОР

Утьянов Д. А.*, Вострикова Н. Л., Василевская Е. Р., Куликовский А. В., Карабанов С. Ю.

Федеральный научный центр пищевых систем им. В. М. Горбатова, Москва, Россия

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: АННОТАЦИЯ

пищевая продукция,
пищевая упаковка,
химические
контаминанты,
полимерная упаковка

В статье приведен обзор научной литературы, посвященной проблеме контаминации пищевой продукции различного рода веществами из упаковочных материалов. Рассматриваемая проблема масштабна — существует большое количество видов соединений, которые могут попасть в пищевую продукцию из упаковки. Контаминация пищевой продукции может происходить за счет миграции веществ, используемых для производства упаковочного материала. Наибольший риск загрязнения пищевого продукта представляют пластиковые полимерные упаковки. Интерес научного сообщества и необходимость изучения описываемой темы обусловлены тем, что преобладающая доля всех соединений, которые мигрируют в пищевую продукцию из упаковки, обладают токсической или канцерогенной активностью, поэтому представляют потенциальный риск для здоровья человека. Из всех описанных в настоящей статье контаминантов наиболее изученными являются бисфенолы. Большое количество исследований по их миграции в пищевые продукты показали, что бисфенолы были обнаружены практически во всех видах пищевой продукции: мясная, молочная, рыбная, фруктовая, овощная. Значительная миграция бисфенолов наблюдается в соковой продукции и в бутылированной воде. Ввиду неблагоприятного воздействия бисфенола А на организм человека его использование в производстве упаковочных материалов для пищевой продукции запрещено. Однако этот запрет привел к распространению аналогов, а именно бисфенолов Б, С, Ф, АФ и пр., которые обнаруживаются в пищевых продуктах. Проведенный обзор показал, что проблема загрязнения пищевой продукции контаминантами из упаковочных материалов требует серьезного внимания со стороны научного сообщества.

ФИНАНСИРОВАНИЕ: Исследования проводились в рамках государственного задания ФГБНУ «ФНЦ пищевых систем им. В. М. Горбатова» РАН FGUS-2024-0002.

Received 21.10.2024

Accepted in revised 21.02.2025

Accepted for publication 25.02.2025

© Utyanov D. A., Vostrikova N. L., Kulikovskii A. V., Vasilevskaya E. R., Karabanov S. Yu., 2025

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

Review article

Open access

CHEMICAL CONTAMINANTS ENTERING FOOD PRODUCTS FROM POLYMER PACKAGING. REVIEW

Dmitry A. Utyanov*, Natalia L. Vostrikova, Andrey V. Kulikovskii,
Ekaterina R. Vasilevskaya, Sergey Yu. Karabanov

V. M. Gorbato Federal Research Center for Food Systems, Moscow, Russia

KEY WORDS:

food products, food
packaging, chemical
contaminants, polymer
packaging

ABSTRACT

The paper presents a review of scientific literature devoted to the problem of food product contamination with various types of substances from packaging materials. The problem under consideration is large-scale — there are many types of compounds that can enter food products from packaging. Food product contamination can occur due to migration of substances used for production of packaging materials. Plastic polymer packages represent the highest risk of food product contamination. The interest of the scientific community and the need for studying the described theme are determined by the fact that the prevailing proportion of all compounds that migrate into a food product from packaging possesses toxic or carcinogenic activity, and thus, presents the potential risk for human health. Bisphenols are most studied among all contaminants described in this paper. Many studies on their migration into food products have shown that bisphenols were found practically in all types of food products: meat, dairy, fish, fruit and vegetable. The significant migration of bisphenols has been observed in juice products and bottled water. Due to the adverse effect of bisphenol A on the human body, its use in the production of packaging materials for food products is forbidden. However, this ban has led to distribution of analogs, namely, bisphenols B, C, F, AF and others, which are found in food products. The performed review has shown that the problem of food product contamination with contaminants from packaging materials requires serious attention of the scientific community.

FUNDING: The article was published as part of the research topic No. FGUS-2024-0002 of the state assignment of the V. M. Gorbato Federal Research Center for Food Systems of RAS.

1. Введение

Темпы роста производства пищевой продукции диктуют необходимость увеличения производства периферии, связанной с пищевой продукцией, среди которой упаковочные материалы и материалы для этикетирования. Широкое применение имеет упаковка, изготовленная из пластических масс на основе полимерных материалов. Преимуществами данной упаковки являются низкая проницаемость (в сравнении, например, с целлюлозой), относительная инертность

к пищевым продуктам и высокая устойчивость к разрушению. Благодаря этим свойствам снижается риск миграции нежелательных соединений в продукт. В то же время риск контаминации пищевого продукта из-за контакта с упаковочным материалом все же существует. Загрязнение пищевого продукта происходит в основном двумя способами: попаданием в него остатков полимеров и реагентов, образующихся и используемых при производстве упаковочного материала, и попаданием в него побочных химических продуктов производства

ДЛЯ ЦИТИРОВАНИЯ: Утьянов, Д. А., Вострикова, Н. Л., Василевская, Е. Р., Куликовский, А. В., Карабанов, С. Ю. (2025). Химические контаминанты, попадающие в пищевую продукцию из полимерной упаковки. Обзор. *Пищевые системы*, 8(1), 29–35. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2025-8-1-29-35>

FOR CITATION: Utyanov, D. A., Vostrikova, N. L., Kulikovskii, A. V., Vasilevskaya, E. R., Karabanov, S. Yu. (2025). Chemical contaminants entering food products from polymer packaging. Review. *Food Systems*, 8(1), 29–35. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2025-8-1-29-35>

упаковочного материала. Законодательство ЕАЭС строго регламентирует допустимый уровень таких веществ. В ТР ТС 005/2011¹ приведен широкий перечень нормируемых в полимерных упаковочных материалах, контактирующих с пищевым продуктом, веществ — преимущественно спиртов, альдегидов и алканов. Практически все приведенные в ТР ТС 005/2011¹ соединения обеспечены методиками их определения, однако данные методики применимы в основном для исследования самой упаковки. С другой стороны, если безопасность упаковочного материала доказана, а его производство сертифицировано, контроль уровня этих соединений в пищевом продукте нецелесообразен: дополнительные исследования привели бы к удорожанию пищевой продукции.

Контаминация пищевой продукции соединениями, образующимися при производстве упаковочных материалов, представляет собой более сложную проблему. Ученым известны далеко не все продукты возможных реакций при производстве упаковочных материалов, что затрудняет выявление и контроль образующихся веществ. Для известных или предполагаемых продуктов таких реакций сначала разрабатывают методики определения в упаковке, а затем — в пищевом продукте, с последующей оценкой степени загрязнения.

Пластические массы стали неотъемлемой частью многих сфер человеческой деятельности. Бесконтрольное применение полностью синтетических пластмасс (на основе поливинилхлорида, полиэтилена и т. п.) привело к двум глобальным проблемам: к накоплению пластиковых отходов и к загрязнению ими окружающей среды. В последнее время активно растет количество публикаций, подтверждающих факт обнаружения частиц микропластика в тканях животных и человека. Причем накопление частиц микропластика происходит в самых разных тканях организма: в толстом кишечнике [1], в яичках [2], в эндометрии [3], в плаценте [4], в легких [5] и даже в разных тканях скелета (кости, межпозвоночные диски и хрящи) [6]. В наибольшей степени попадание частиц пластика в организм человека происходит через полости носа и рта, т. е. через дыхание и потребление их с напитками и пищей.

В связи с этим целью настоящего обзора было проведение литературного анализа работ, посвященных вопросу загрязнения пищевой продукции контаминантами из упаковочных материалов.

2. Материалы и методы

Для составления обзора в соответствии с поставленной целью был проведен поиск научно-исследовательских работ на английском языке, рецензируемых в базах данных Scopus и Web Of Science. Первоначальными ключевыми словами были «food package», «food package pollutants», «bisphenols», «bisphenol A», «plastic polymer food packaging», «determination of contaminants from food packaging», «plasticizers», «plasticizers determination in foods», «food package additives». В первую очередь были отобраны работы не старше пяти лет с момента публикации. Работы старше пяти лет использовались при необходимости.

3. Химические контаминанты, попадающие в пищевую продукцию из полимерной упаковки

Контаминанты, попадающие в пищевую продукцию из упаковки, можно разделить на три группы: частицы упаковочного материала; вещества, образовавшиеся при его производстве; вещества, добавленные для придания упаковке определенных свойств.

3.1. Диоксид титана

Одним из примеров веществ, которые внесли или которыми работали упаковку для придания ей каких-либо свойств или характеристик, является диоксид титана (TiO₂). Диоксид титана широко применяется в пищевой промышленности в том числе в качестве пищевой добавки (индекс E171). Благодаря биосовместимости и антибактериальным свойствам, диоксид титана используется как функциональный нанонаполнитель при производстве биоразлагаемых пищевых пленок. Это вещество в составе пищевой пленки способствует уменьшению ее толщины, улучшению цвета, а также придает ей антибактериальные, барьерные, светозащитные и механические свойства [7].

Как отмечалось ранее, диоксид титана широко используется в пищевой промышленности в качестве пищевой добавки и разрешен во многих странах мира, в том числе в России. Но начиная с 2020 года диоксид титана был запрещен к использованию во Фран-

ции, а в 2021 году Европейское агентство по безопасности продуктов питания (EFSA) начало разрабатывать план по запрету его использования на территории ЕС в качестве пищевой добавки [8]. Такое разнообразие в законодательстве разных стран относительно использования диоксида титана связано с противоречащими друг другу исследованиями: с одной стороны, растет количество публикаций, которые подтверждают его канцерогенные, мутагенные и генотоксические свойства [9,10]. Влияние наночастиц диоксида титана на плод, в том числе пренатальное, также вызывает опасения, например, возможное замедление развития [11]. С другой стороны, существуют исследования, подтверждающие его безопасность [12].

Растущее число работ, доказывающих вредное воздействие диоксида титана на организм человека, позволяет прогнозировать скорый запрет на его применение в пищевой промышленности в качестве пищевой добавки. Однако вред от потребления диоксида титана не должен быть поводом отказываться от его использования в качестве наполнителя для полимерных упаковочных материалов, учитывая, как сильно он может улучшить характеристики упаковки. Для оценки безопасности необходимо определить содержание диоксида титана в пищевых продуктах и оценить степень его миграции из упаковки. Это позволит убедиться, что миграция либо отсутствует, либо находится на безопасном уровне. Работы по выявлению степени миграции диоксида титана в пищевой продукт из упаковки уже ведутся, однако пока его определяют не в конкретном пищевом продукте, а в модельных системах [13,14]. В результате было установлено, что количества переходящего в продукт диоксида титана были на уровне ≈ 0,65 нг/мл. Этот показатель, как заявляют авторы, представляет собой довольно низкие концентрации — даже ниже норм, предусмотренных законодательством ЕС [8]. Тем не менее необходима разработка методик для определения содержания диоксида титана в различных пищевых продуктах, а не в идеальных условиях модельных систем. Во-первых, это позволит устанавливать наличие диоксида титана в пищевых продуктах в случае его запрета в качестве пищевой добавки. Во-вторых, это позволит проводить более объективные исследования по вопросу миграции диоксида титана в пищевые продукты различных видов из оболочки.

3.2. 2-бензотиазолитию метил тиоцианат

Другой добавкой в производстве упаковочных материалов является 2-бензотиазолитию метил тиоцианат (ТСМТВ). ТСМТВ — фунгицид, который используется для обработки в том числе упаковочных материалов на бумажной основе для борьбы с плесенью. Как и любой другой фунгицид, ТСМТВ неблагоприятен для живого организма, а из-за своей нестабильности он легко разлагается до 2-меркаптобензотиазола, который оказывает влияние на кожу и слизистую оболочку, вызывая тем самым дерматит, язвы кожи и аллергические реакции [15,16].

В работе [17] авторы создали методику определения ТСМТВ с помощью иммуноферментного анализа. Исследователи отказались от использования ГХ–МС и ВЭЖХ–МС/МС методов, которые широко используются для определения фунгицидов в сторону иммуноферментного анализа, так как он дешевле, быстрее и удобнее, чем упомянутые методы. ТСМТВ таким способом определяют непосредственно в самой упаковке. Методики выявления его в пищевом продукте в настоящее время отсутствуют. Однако в них нет острой необходимости. Как и в случае с показателями, регулируемые ТР ТС 005/2011, соблюдение норм концентрации веществ в упаковке позволяет предположить их безопасность и в самом пищевом продукте.

3.3. Полифторалкилированные вещества

Переходя к веществам, которые используются при производстве упаковок, в первую очередь, стоит сказать об одних из наиболее распространенных веществ — пер- и полифторалкилированные вещества (PFAS). PFAS — химические соединения, в которых атомы водорода частично или полностью замещены фтором. Благодаря тому, что связь углерод-фтор — одна из наиболее сильных связей, известных органической химии, PFAS не разрушаются при высоких температурах, труднорастворимы и в воде, и в жирах. Они используются не только при производстве пищевой упаковки [18,19], но и при производстве гидравлических жидкостей, красок, чернил, огнетушащих пен, пестицидов, полиролей для поверхностей, антипригарных поверхностей и пр. [20,21]. PFAS обладают иммунотоксичными канцерогенными свойствами [22,23] и могут быть причиной развития рака почек и яичек. Учитывая многообразие источников попадания PFAS в окружающую среду и организм человека, а также их потенциальную опасность для здоровья населения, контролю этих веществ (особенно в пищевой упаковке) следует уделять особое внимание

¹ ТР ТС 005/2011 Технический регламент Таможенного союза. О безопасности упаковки. Утвержден Решением Комиссии Таможенного союза от 16 августа 2011 года № 769.

из-за риска значительной миграции в продукты. Такой вывод можно сделать на основании результатов работы [24], в которой авторы исследовали упаковку для ресторанов быстрого питания во Франции. Согласно полученным данным, PFAS в упаковке были обнаружены в концентрациях до 287 нг/г. Исследования ограничили анализом упаковки, сами пищевые продукты не изучались. Высокое содержание PFAS и их канцерогенные свойства, обнаруженные в упаковке, обуславливают необходимость создания методики определения этих веществ в пищевых продуктах. Исследования миграции PFAS из упаковки в продукты позволят оценить реальный риск развития рака при употреблении таких продуктов.

3.4. Контаминация пищевого продукта частицами упаковочного материала

Говоря об исследованиях по вопросам миграции в пищевую продукцию частиц самого упаковочного материала или веществ, образовавшихся в результате производства упаковочного материала, т. е. непреднамеренно добавленных веществ, можно сказать, что такие исследования были первыми в области контаминации веществами из изделий, контактирующих с пищевой продукцией. Поэтому большая часть работ опубликована именно в этом направлении, а сами исследования ведутся уже относительно давно. Особенный интерес у научного сообщества появился с началом широкого применения так называемой «удобной» пластиковой упаковки, или бумажной упаковки, покрытой полимерными материалами. Связано это с тем, что люди в «удобной» упаковке греют еду в микроволновых печах, а микроволновое излучение так или иначе провоцирует разбухание полимеров, оказывает влияние на целостность пластика [25] и даже может приводить к образованию соединений, вступающих во взаимодействие с натуральными компонентами пищи [26].

Рядом работ доказано, что частицы пластика из упаковки в пищевой продукт переходят не только из-за микроволнового излучения, но и при других условиях. Так, в работе [27] изучали вопрос миграции контаминантов из пластиковой упаковки в продукцию для детского питания. В результате был установлен факт миграции в продукт 42 контаминантов из упаковки. Из которых 34 компонента самой упаковки и 8 веществ, которые изначально не использовались при производстве упаковки. Которые, как утверждают авторы, были обнаружены вообще впервые. Среди обнаруженных контаминантов были адипиновая кислота, моноэтиленгликоль, диэтиленгликоль, фталевая кислота, неопентилгликоль, себациновая кислота, бутандиол, субериновая кислота, гександиол, пропандиол по отдельности или их комбинации. Все они были обнаружены в продуктах качественно за исключением двух олигомеров, концентрацию которых удалось рассчитать за счет наличия стандартных образцов. Их концентрация была выше 10 мкг/кг, что превышает нормы, установленные для продукции детского питания. Важно отметить, что исследованная продукция не подвергалась дополнительному термическому воздействию (например, нагреву в микроволновой печи). Контаминанты мигрировали в продукт либо в процессе производства (при наличии термической обработки), либо во время хранения [27].

Говоря о пластиковой таре, важно понимать, что риск миграции частиц или производных пластика существует не только из пластиковой упаковки, в которую упаковывают пищевые продукты на производстве, но и из пластиковых контейнеров для домашней еды. Что и было доказано в работе [28]. В ней авторы изучали вопрос миграции ди(2-этилгексил)фталата (ДЭГФ) и ди-н-бутилфталата (ДБФ) из полипропиленовых пищевых контейнеров для хранения пищевой продукции, приобретенных в местных магазинах, с маркировкой о допустимости греть в них еду в микроволновой печи и мыть их в посудомоечных машинах. Сами анализы, ДЭГФ и ДБФ, являются фталатными пластификаторами, которые широко используются в производстве пластиковых материалов, и их наличие выявляют в пищевых продуктах уже относительно давно [29]. Сами фталатные пластификаторы не встраиваются в полимерную матрицу упаковочного материала из-за своих химических свойств, поэтому остаются в свободной форме и легко выщелачиваются, испаряются и мигрируют в пищевой продукт, тем самым серьезно повышая риск их попадания в организм перорально, через дыхательные пути или через кожу. Результаты токсикологических исследований на животных и людях показали, что фталатные пластификаторы могут быть причиной серьезных нарушений развития и репродуктивной функции [30,31]. В экспериментах на грызунах побочные эффекты от них были по большей части выявлены для таких органов-мишеней, как печень, почки, иногда для щитовидной железы и яичек. Их воздействие сильно зависит от дозы и пола испытуемого [32,33]. Несмотря на установленные токсикологические эффекты фталатов [33], большин-

ство из них обладают довольно низкой острой токсичностью с LD₅₀ на уровне 30г/кг веса [34].

Возвращаясь к результатам исследования миграции ДЭГФ и ДБФ [28]: в ходе выполнения работы авторы симитировали пищевую среду путем использования жидкостей с pH в диапазоне от 3 до 9, которые помещали в контейнеры и нагревали в микроволновых печах в течение 1–5 минут. Наивысшие уровни миграции ДЭГФ и ДБФ были при наименьшем значении pH = 3, при этом их концентрация была прямо пропорциональна продолжительности нагрева в микроволновой печи. Наивысшие концентрации, обнаруженные авторами, составляли 159,8 и 104,9 мкг/л для ДЭГФ и ДБФ соответственно.

Аналогичные исследования приведены в работе [35]. В ней авторы приобрели в местных магазинах 200 единиц пищевой продукции в полимерной упаковке: 80 единиц в бумажной упаковке, покрытой полиэтиленом, 80 — в упаковке из полипропилена, и 40 — в полистерене. Далее из упаковки была удалена пищевая продукция, а сама упаковка промыта дистиллированной водой. Затем в упаковку наливали 20% раствор этанола и подвергали разным способом воздействия: заливали кипятком для имитации процесса заваривания лапши быстрого приготовления или грели в микроволновой печи в течение двух минут для имитации процесса разогрева пищи. Подвергнув растворы описанным условиям, определяли в них содержание фенола, ацетофенона, 4-пропилбензальдегида, 2-этил-1-гексанола, 2,4-ди-трет-бутилфенола, бутилированного гидрокситолуола, 2,2,4-триметил-1,3-пентандиолдиизобутирата и 2,6-ди-трет-бутил-Р-бензохинона. В результате исследований установлено, что содержание определяемых аналитов варьировалось в диапазоне от 4,2 до 39,3 мкг/л, но были и образцы, в которых они находились на уровне ниже предела обнаружения использованной методики. Наибольшие концентрации получены в образцах, упаковка которых подвергалась многократному воздействию микроволнового излучения, что приводило к более выраженному набуханию полимера и, соответственно, к его более серьезному разрушению. Но в то же время авторы заявляют, что такие концентрации не представляют риска для здоровья человека [35].

Вопрос миграции частиц пластика из полимерной упаковки в пищевую продукцию в результате воздействия микроволнового излучения исследован довольно тщательно. Так, в очередной работе [36] авторы исследовали миграцию полиэтилен терефталата в различные имитаторы пищевых продуктов. Факт миграции исследователями был установлен. Также в статье показано, что при нагревании тары в микроволновой печи миграция находится на значительно более высоком уровне, чем при нагревании конвекционным способом при тех же температурах. Но аналогично с работой [35] авторы заявляют, что количества мигрирующих в пищевую продукт фталатов не опасны для человека, т. к. находятся ниже предельного установленного уровня Европейской Комиссией (10 мг с 1дм² упаковочного материала).

Аналогичные исследования были проведены в работе [37]. В ней авторы исследовали миграцию компонентов из рукавов для запекания в различные имитаторы пищевой продукции и в мясо птицы в результате воздействия на них нагреванием микроволновым излучением и конвекционным способом. Среди имитаторов пищевой продукции были 10% раствор этанола, 95% раствор этанола и растительные масла. Среди имитаторов пищевой продукции был установлен факт миграции только в 10% раствор этанола. Что касается мяса птицы, то в ней были обнаружены 27 веществ, мигрирующих из рукава для запекания, большая часть которых — это альдегиды и кетоны, которые в том числе оказывают серьезное влияние на аромат и вкус продукт. Авторы подчеркивают, что большее их количество образуется при термической обработке конвекционным способом, нежели при нагревании в микроволновой печи. Случай миграции в мясо птицы соединений, образовавшихся в рукавах для готовки из-за высоких температур, достигаемых в духовке, говорит о необходимости контроля материалов, из которых производят рукава для запекания [37].

3.5. Фотоинициаторы

Другие вещества, которые могут попасть в пищевую продукт из упаковки — фотоинициаторы. В отличие от большей части соединений, описанных ранее, фотоинициаторы используются не для производства полимерной пластиковой упаковки, а добавляются в чернила, которые применяются для нанесения маркировки на упаковку, для их отверждения под воздействием УФ-излучения. Казалось бы, в таком случае они не могут попасть в пищевую продукт, т. к. используются с наружной стороны упаковки. Однако в 2009 году учеными Германии было доложено в Европейскую комиссию, что в мяси,

произведенных в Бельгии, был обнаружен 4-метил бензофенон, который является фотоинициатором, в концентрации 789 мкг/кг. Дальнейшие исследования в этом направлении показали, что в злаковых хлопьях, произведенных также в Бельгии, были обнаружены 4-метил бензофенон и бензофенон в концентрациях 3729 мкг/кг и 4210 мкг/кг соответственно [38,39]. Исследования, подтвердившие токсикологические, канцерогенные и эндокринные эффекты фотоинициаторов, а также данные 2009 года об их присутствии в пищевых продуктах стимулировали многочисленные исследования миграции этих веществ в пищу. Так, в публикации [40] показано, что изопротилтиоксантон — один из фотоинициаторов — взаимодействует с липидами. В [41] показано *in vitro*, что изопротилтиоксантон проявляет антиэстрогенные и антиандрогенные свойства. Канцерогенные свойства бензофенона были продемонстрированы на самках и самцах крыс в ходе проведения работы [42]. Помимо канцерогенных свойств бензофенона, доказано, что он может быть причиной гипоспадии [43]. Работой [44] показано, что фотоинициаторы обладают высокой степенью абсорбции в желудочно-кишечном тракте с дальнейшим попаданием в плазму крови.

В работе [45] исследовали миграцию четырех фотоинициаторов (бензофенон, 4-метил бензофенон, 2-метил-4'-(метилтио)-2-морфолинопропиофенон и 2-этилгексил-4-(диметиламино)бензоат) в попкорн и пищевой имитатор Tenax®. Как это бывает в работах по изучению миграции в пищевой продукт веществ из полимерной упаковки, в данной работе сравнивали нагревание продукта в микроволновой печи (мощность 100, 440 и 600 Вт) и конвекционным способом (20, 40 и 60 °С). Согласно результатам, все из определяемых четырех фотоинициаторов были обнаружены как в пищевом имитаторе, так и в попкорне. Наибольшая доля во всех образцах приходилась на бензофенон, следующим по количеству был 4-метил бензофенон, затем 2-этилгексил-4-(диметиламино)бензоат и наименьшее количество во всех образцах пришлось на 2-метил-4'-(метилтио)-2-морфолинопропиофенон.

Учитывая способность фотоинициаторов мигрировать в пищевую продукцию, а также их токсикологические и канцерогенные свойства, в первую очередь необходимо научиться определять их в самой упаковке, что и было сделано авторами работы [46]. В ней авторы разработали методику определения восемнадцати фотоинициаторов с помощью ГХ–МС метода. Было разработано два способа подготовки проб: с использованием специального оборудования для подготовки проб FastPrep-24 и экстракция с помощью ультразвука. Сама методика позволяет обнаружить фотоинициаторы в упаковках с качественными и количественными пределами обнаружения от 0,060 до 0,614 мкг/кг и от 0,197 до 2,027 мкг/кг соответственно. Разработанную методику авторы применили к реальным образцам бумажной упаковки и установили, что некоторые аналиты отсутствовали в отдельных видах, а концентрация обнаруженных составляла от 1,29 до 194,75 мкг/кг.

3.6. Бисфенолы

Бисфенолы — одни из наиболее изученных загрязнителей, которые могут мигрировать в пищевые продукты из пластиковой упаковки. Исследованиями, посвященными определению бисфенолов в пищевой продукции, занимаются ученые со всего мира. В данном направлении можно найти работы китайских, европейских, американских ученых, а также работы ученых из стран Ближнего Востока. Кроме того, большинство этих работ направлены на определение бисфенолов непосредственно в пищевой продукции, а не в упаковке, в отличие от других загрязнителей, рассмотренных ранее.

Изучение вопроса контаминации пищевой продукции бисфенолами началось с бисфенола А (БФА). БФА широко использовался при производстве поликарбонатных материалов, эпоксидных смол и термобумаги. Из-за больших объемов производств материалов с применением БФА, а также соответствующих объемов дальнейшей утилизации этих материалов, БФА довольно сильно загрязнил окружающую среду [47]. Загрязнение окружающей среды БФА подтверждают исследования, согласно которым БФА был обнаружен в сыворотке крови человека, моче, пуповинной крови, амниотической жидкости и плацентарной ткани [48]. В работе [49] авторы связывают БФА из-за его эндокринно-разрушающей природы с такими заболеваниями, как диабет, ожирение, репродуктивные расстройства, сердечно-сосудистые заболевания, врожденные дефекты и рак молочной железы. В связи с неблагоприятным воздействием на организм человека, в Канаде, США, Китае и ЕС БФА был запрещен для использования при производстве материалов, которые могут в дальнейшем каким-либо способом контактировать с младенцами.

Для соблюдения запрета о применении БФА в производстве начали применять различные его аналоги. Наиболее часто применяемые из них: бисфенол В (БФВ), бисфенол С (БФС), бисфенол Ф (БФФ) и бисфенол АФ (БФАФ). Широкое применение бисфенолов привело к загрязнению ими окружающей среды. В обзорной работе [50] приведена информация, что перечисленные аналоги БФА были обнаружены в продуктах питания и жидкостях человеческого организма. Также была отмечена их эстрогеноподобная активность аналогично с БФА. БФВ, БФС, БФФ и БФАФ были обнаружены, в частности, в речной [51] и морской водах [52], а также в отложениях в них [53], в грудном молоке женщин [54], в сыворотке крови и в моче людей разных возрастов [55,56]. Известно, что бисфенолы обнаруживали в мышечной ткани и печени океанических костных рыб, тем самым они потенциально представляют риск для человеческого здоровья. Учитывая это, бисфенолы можно назвать не только загрязнителями пищевой продукции, а сильными загрязнителями окружающей среды.

В целом все бисфенолы обладают аналогичной токсичностью, как и БФА [50,57]: БФС и БФФ оказывают воздействие на тироидные гормоны [49], БФАФ проявил даже более высокую потенциальную токсичность, чем БФА, в клетках крови человека [58].

Как ранее было отмечено, бисфенолы — одни из наиболее изученных загрязнителей пищевой продукции из упаковочных материалов. Подтверждает это большое количество работ, посвященных разработкам метода их определения в разнообразных пищевых продуктах, упаковочных материалах и т. п., и проведению мониторинговых исследований по вопросу их содержания в пищевой продукции.

Что касается методик их определения, практически все они основаны на методе ВЭЖХ–МС/МС (чуть реже используется метод ГХ–МС), как и все методики для определения загрязнителей пищевой продукции экзогенного и эндогенного происхождения. Подготовка проб во всех работах предпочтительно используется с ТФЭ, но различных видов, среди которых твердофазная микроэкстракция, магнитная твердофазная экстракция, дисперсионная твердофазная экстракция, сорбционная экстракция с мешалкой и мембранная экстракция [59–61].

Для понимания масштабов проблемы контаминации пищевой продукции бисфенолами можно привести следующие работы:

[62] — исследования 168 наименований пищевой продукции Канады и Южной Африки, среди которых рыбное филе, куриная грудка, консервированный тунец, овощи, хлеб и сливочное масло. В ходе выполнения работы в исследованной пищевой продукции были обнаружены 11 бисфенолов, суммарная концентрация которых в рыбе составила до 23,3 мкг/кг, в овощах — до 0,17 мкг/кг, в куриной грудке — до 18,7 мкг/кг. Однако в хлебе, сливочном масле и консервированном тунце бисфенолы обнаружены не были;

[63] — исследовали 93 образца соков, реализуемых в Риате, Саудовская Аравия. Бисфенолы были обнаружены в 77 из 93 исследованных образцов в диапазоне концентраций от 0,14 до 28,97 мкг/л;

[64] — исследовали консервированные фрукты и овощи, среди которых ананасы, персики, личи, груши, манго, папайя, маракуйя, кукуруза, зеленая фасоль, горошек, грибы, соя, томаты, шпинат и морковь. Авторы обнаружили бисфенолы в 87% исследованных образцов в диапазоне концентраций от 0,3 до 265,6 мкг/кг;

[65] — были проведены исследования образцов безалкогольных напитков в жестяных банках и бутилированной воды, реализуемых в Индии. Бисфенолы были обнаружены во всех исследованных образцах в диапазонах концентраций 8,2–14,01 нг/л для безалкогольных напитков в жестяных банках и 60–90 нг/л в бутилированной воде. Сравнение результатов исследований [65] и [63], посвященных напиткам, выявляет тысячекратное расхождение в данных.

[66] — работа посвящена созданию способа экстракции бисфенолов, однако разработанный способ испытывали на напитках «Кока-кола» и «Спрайт», реализуемых в Китае. Результаты показали содержание бисфенолов в этих напитках в концентрациях 92–94 мкг/л;

[67] — очередная работа китайских ученых (аналогично с [66]) была направлена на разработку методики определения бисфенолов. В ходе исследования изучались реальные образцы. Были проведены испытания блюд: курицы Кунг Пао, Мапо Тофу и рубленной свинины Ю-Шань по 4 образца каждого наименования. Результаты показали наличие бисфенолов А и С в каждом исследованном образце с концентрациями 0,72–19,37 мкг/кг и 0,10–26,99 мкг/кг соответственно. БФАФ был обнаружен только в 3 образцах курицы Кунг Пао, БФФ — в половине образцов, а БФВ не был найден ни в одном из образцов.

4. Заключение

Результаты анализа научной литературы продемонстрировали серьезную проблему контаминации пищевой продукции компонентами упаковочных материалов. Все рассмотренные работы показывают, что нет практически никакого упаковочного материала, который бы не «загрязнял» пищевую продукцию. Большая часть работ посвящена соединениям, которые переходят в пищевую упаковку из пластиковых упаковочных материалов. Однако есть существенное количество доказательств того, что и из других видов упаковки (например, из бумажной) в пищевой продукт могут мигрировать компоненты, оказывающие неблагоприятное воздействие на организм человека. Даже составляющие чернил для маркировки, которые теоретически никак не могут контактировать с пищевым продуктом, поскольку находятся на внешней стороне упаковки, могут попадать в пищевой продукт.

Публикационная активность в этом направлении показывает, что научное сообщество заинтересовалось данным вопросом относительно недавно — работ за последние 3–4 года больше, чем за предыдущие два десятилетия. Это в очередной раз показывает масшта-

бы изучаемой проблемы и подчеркивает необходимость проведения исследований в этой области. Многочисленные исследования показывают, что миграция контаминантов из упаковки в продукты питания, как правило, невелика и часто значительно ниже установленных предельно допустимых концентраций (ПДК). Это говорит о том, что воздействие таких веществ на организм человека, как правило, незначительно. Однако важно помнить, что пищевые продукты — не единственный источник веществ, присутствующих в упаковочных (и других) материалах, особенно в пластиковых. Кроме того, важно понимать, что большинство соединений, обладающих канцерогенными свойствами, зачастую обладают синергетическим эффектом — один канцероген, попадая в организм, усиливает канцерогенные свойства других.

Необходимость исследования контаминации пищевого продукта веществами из упаковочных материалов показывает и пример с диоксидом титана — еще 15 лет назад его считали безопасным для человека и широко использовали, а в настоящее время он запрещен к применению в пищевой промышленности в некоторых странах из-за его канцерогенных и генотоксических свойств.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК / REFERENCES

- Ibrahim, Yu. S., Anuar, S. T., Azmi, A. A., Khalik, W. M. A. W. M., Lehata, S., Hamzah, S. R. et al. (2021). Detection of microplastics in human colectomy specimens. *JGH Open*, 5(1), 116–121. <https://doi.org/10.1002/jgh3.12457>
- Hu, C. J., Garcia, M. A., Nihart, A., Liu, R., Yin, L., Adolphi, N. et al. (2024). Microplastic presence in dog and human testis and its potential association with sperm count and weights of testis and epididymis. *Toxicological Sciences*, 200(2), 235–240. <https://doi.org/10.1093/toxsci/kfae060>
- Qin, X., Cao, M., Peng, T., Shan, H., Lian, W., Yu, Y. et al. (2024). Features, potential invasion pathways, and reproductive health risks of microplastics detected in human uterus. *Environmental Science and Technology*, 58(24), 10482–10493. <https://doi.org/10.1021/acs.est.4c01541>
- Ragusa, A., Svelato, A., Santacroce, C., Catalano, P., Notarstefano, V., Carnevali, O. et al. (2021). Plasticenta: First evidence of microplastics in human placenta. *Environment International*, 146, Article 106274. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2020.106274>
- Amato-Lourenço, L. F., Carvalho-Oliveira, R., Ribeiro Júnior, G., Galvão, L. dos S., Ando, R. A., Mauad, T. (2021). Presence of airborne microplastics in human lung tissue. *Journal of Hazardous Materials*, 416, Article 126124. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2021.126124>
- Yang, Q., Peng, Y., Wu, X., Cao, X., Zhang, P., Liang, Z. et al. (2025). Microplastics in human skeletal tissues: Presence, distribution and health implications. *Environment International*, 196, Article 19316. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2025.109316>
- Zhan, W., Rhim, J.-W. (2022). Titanium dioxide (TiO₂) for the manufacture of multifunctional active food packaging films. *Food Packaging and Shelf Life*, 31, Article 100806. <https://doi.org/10.1016/j.foodpack.2021.100806>
- Bampidis, V., Azimonti, G., Bastos, M. de L., Christensen, H., Dusemund, B., Durjava, M. F. et al. (2021). Safety and efficacy of a feed additive consisting of titanium dioxide for all animal species (Kronos International, Inc.). *EFSA Journal*, 19(6), Article e06630. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2021.6630>
- Naves, M. P. C., de Moraes, C. R., Silva, A. C. A., Dantas, N. O., Spanó, M. A., de Rezende, A. A. (2018). Assessment of mutagenic, recombinogenic and carcinogenic potential of titanium dioxide nanocrystals in somatic cells of *Drosophila melanogaster*. *Food and Chemical Toxicology*, 112, 273–281. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2017.12.040>
- Shi, J., Han, S., Zhang, J., Liu, Y., Chen, Z., Jia, G. (2022). Advances in genotoxicity of titanium dioxide nanoparticles in vivo and in vitro. *NanoImpact*, 25, Article 100377. <https://doi.org/10.1016/j.nanoimp.2021.100377>
- Wu, Y., Chen, L., Chen, F., Zou, H., Wang, Z. (2020). A key moment for TiO₂: Prenatal exposure to TiO₂ nanoparticles may inhibit the development of offspring. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 202, Article 110911. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2020.110911>
- El Yamani, N., Rubio, L., García-Rodríguez, A., Kažimirová, A., Rundén-Pran, E., Magdalena, B. et al. (2022). Lack of mutagenicity of TiO₂ nanoparticles in vitro despite cellular and nuclear uptake. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 882, Article 503545. <https://doi.org/10.1016/j.mrgentox.2022.503545>
- Bastardo-Fernández, I., Chekri, R., Oster, C., Thoury, V., Fiscaro, P., Jitaru, P. et al. (2024). Assessment of TiO₂ (nano)particles migration from food packaging materials to food simulants by single particle ICP-MS/MS using a high efficiency sample introduction system. *NanoImpact*, 34, Article 100503. <https://doi.org/10.1016/j.nanoimp.2024.100503>
- Yang, Ch., Zhu, B., Wang, J., Qin, Yu. (2019). Structural changes and nano-TiO₂ migration of poly(lactic acid)-based food packaging film contacting with ethanol as food simulant. *International Journal of Biological Macromolecules*, 139, 85–93. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.07.151>
- Bertoldi, C., Pena, A. de C. C., Dallegrave, A., Fernandes, A. N., Gutterres, M. (2020). Photodegradation of emerging contaminant 2-(tiocyanomethylthio) benzothiazole (TCMTB) in aqueous solution: Kinetics and transformation products. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 105(3), 443–439. <https://doi.org/10.1007/s00128-020-02954-2>
- Hansen, A., Brans, R., Sonnsann, F. (2021). Allergic contact dermatitis to rubber accelerators in protective gloves: Problems, challenges and solutions for occupational skin protection. *Allergologie Select*, 5, 335–344. <https://doi.org/10.5414/ALX02265E>
- Gao, W., Cheng, Y., Ni, Y., Wu, A., Song, S., Kuang, H. et al. (2024). Immunochromatographic assay for detection (2-benzothiazolylthio) methyl thiocyanate in food packaging paper materials. *Food Bioscience*, 60, Article 104260. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2024.104260>
- Glenn, G., Shogren, R., Jin, X., Orts, W., Hart-Cooper, W., Olson, L. (2021). Per- and polyfluoroalkyl substances and their alternatives in paper food packaging. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 20(3), 2596–2625. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12726>
- Carnero, A. R., Lestido-Cardama, A., Loureiro, P. V., Barbosa-Pereira, L., de Quirós, A. R. B., Sendón, R. (2021). Presence of perfluoroalkyl and polyfluoroalkyl substances (PFAS) in food contact materials (FCM) and its migration to food. *Foods*, 10(7), Article 1443. <https://doi.org/10.3390/foods10071443>
- Hepburn, E., Madden, C., Szabo, D., Coggan, T. L., Clarke, B., Currell, M. (2019). Contamination of groundwater with per- and polyfluoroalkyl substances (PFAS) from legacy landfills in an urban re-development precinct. *Environmental Pollution*, 248, 101–115. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2019.02.018>
- Ateia, M., Maroli, A., Tharayil, N., Karanfil, T. (2019). The overlooked short- and ultrashort-chain poly- and perfluorinated substances: A review. *Chemosphere*, 220, 866–882. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2018.12.186>
- Schneider, L. A., Balan, S. A., Blum, A., Andrews, D. Q., Strynar, M. J., Dickinson, M. E. et al. (2017). Fluorinated compounds in U. S. Fast food packaging. *Environmental Science and Technology Letters*, 4(3), 105–111. <https://doi.org/10.1021/acs.estlett.6b00435>
- Barry, V., Winquist, A., Steenland, K. (2013). Perfluorooctanoic acid (PFOA) exposures and incident cancers among adults living near a chemical plant. *Environmental Health Perspectives*, 121(11–12), 1313–1318. <https://doi.org/10.1289/EHP.1306615>
- Dueñas-Mas, M. J., Ballesteros-Gómez, A., de Boer, J. (2023). Determination of several PFAS groups in food packaging material from fast-food restaurants in France. *Chemosphere*, 339, Article 139734. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2023.139734>
- Alin, J., Hakkarainen, M. (2010). Type of polypropylene material significantly influences the migration of antioxidants from polymer packaging to food simulants during microwave heating. *Journal of Applied Polymer Science*, 118(2), 1084–1093. <https://doi.org/10.1002/app.32472>
- Díaz-Galiano, F. J., Gómez-Ramos, M. J., Beraza, I., Murcia-Morales, M., Fernández-Alba, A. R. (2023). Cooking food in microwavable plastic containers: In situ formation of a new chemical substance and increased migration of polypropylene polymers. *Food Chemistry*, 417, Article 135852. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2023.135852>
- Bauer, A., Jesús, F., Ramos, M.J.G., Lozano, A., Fernández-Alba, A. R. (2019). Identification of unexpected chemical contaminants in baby food coming from plastic packaging migration by high resolution accurate mass spectrometry. *Food Chemistry*, 295, 274–288. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.05.105>
- Fang, H., Wang, J., Lynch, R. A. (2017). Migration of di(2-ethylhexyl)phthalate (DEHP) and di-nbutylphthalate (DBP) from polypropylene food containers. *Food Control*, 73(Part B), 1298–1302. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2016.10.050>
- Lau, O.-W., Wong, S.-K. (2000). Contamination in food from packaging material. *Journal of Chromatography A*, 882(1–2), 255–270. [https://doi.org/10.1016/S0021-9673\(00\)00356-3](https://doi.org/10.1016/S0021-9673(00)00356-3)
- Duty, S. M., Calafat, A. M., Silva, M. J., Ryan, L., Hauser, R. (2005). Phthalate exposure and reproductive hormones in adult men. *Human Reproduction*, 20(3), 604–610. <https://doi.org/10.1093/humrep/deh656>
- Latini, G., Del Vecchio, A., Massaro, M., Verrotti, A., De Felice, C. (2006). Phthalate exposure and male infertility. *Toxicology*, 226(2–3), 90–98. <https://doi.org/10.1016/j.tox.2006.07.011>
- Singh, S., Li, S. S.-L. (2011). Phthalates: Toxicogenomics and inferred human diseases. *Genomics*, 97(3), 148–157. <https://doi.org/10.1016/j.ygeno.2010.11.008>
- Heudorf, U., Mersch-Sundermann, V., Angerer, J. (2007). Phthalates: Toxicology and exposure. *International Journal of Hygiene and Environmental Health*, 210(5), 623–634. <https://doi.org/10.1016/j.ijheh.2007.07.011>

34. Wang, Y., Qian, H. (2021). Phthalates and their impacts on human health. *Healthcare*, 9(5), Article 603. <https://doi.org/10.3390/healthcare9050603>
35. Pack, E. C., Lee, K. Y., Jung, J. S., Jang, D. Y., Kim, H. S., Koo, Y. L. et al. (2021). Determination of the migration of plastic additives and non-intentionally added substances into food simulants and the assessment of health risks from convenience food packaging. *Food Packaging and Shelf Life*, 30, Article 100736. <https://doi.org/10.1016/j.fpsl.2021.100736>
36. Alin, J., Hakkarainen, M. (2013). Combined chromatographic and mass spectrometric toolbox for fingerprinting migration from PET tray during microwave heating. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 61(6), 1405–1415. <https://doi.org/10.1021/jf3047847>
37. Aznar, M., Domeño, C., Osorio, J., Nerin, C. (2020). Release of volatile compounds from cooking plastic bags under different heating sources. *Food Packaging and Shelf Life*, 26, Article 100552. <https://doi.org/10.1016/j.fpsl.2020.100552>
38. SCICOM. (2009). Migration de 4-méthylbenzophénone de l'emballage en carton imprimé vers les céréales de petit déjeuner (dossier 2009/05) Conseil urgent validé par le Comité scientifique le 16/02/2009 Retrieved from https://scicom.favv-afscs.be/comitescientifique/avis/2009/_documents/CONSEILurgent_05-2009_FR_DOSSIER2009-05.pdf Accessed September 12, 2024.
39. UN System Chief Executives Board for Coordination. High-Level Committee on Management. Human Resources Network (2009). Conclusions of the meeting of the Human Resources Network, 17th session (UNWTO, Madrid, 4–6 March 2009): Chief Executives Board for Coordination. Retrieved from <https://digitallibrary.un.org/record/3921446?view=pdf> Accessed September 12, 2024.
40. Momo, F., Fabris, S., Stevanato, R. (2007). Interaction of isopropylthioxanthone with phospholipid liposomes. *Biophysical Chemistry*, 127(1–2), 36–40. <https://doi.org/10.1016/j.bpc.2006.12.002>
41. Peijnenburg, A., Riethof-Poortman, J., Bayku, H., Portier, L., Bovee, T., Hoogenboom R. (2010). AhR-agonistic, anti-androgenic, and anti-estrogenic potencies of 2-isopropylthioxanthone (ITX) as determined by *in vitro* bioassays and gene expression profiling. *Toxicology in Vitro*, 24(6), 1619–1628. <https://doi.org/10.1016/j.tiv.2010.06.004>
42. Rhodes, M. C., Bucher, J. R., Peckham, J. C., Kissling, G. E., Hejtmancik, M. R., Chhabra, R. S. (2007). Carcinogenesis studies of benzophenone in rats and mice. *Food and Chemical Toxicology*, 45(5), 843–851. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2006.11.003>
43. Hsieh, M. H., Grantham, E. C., Liu, B., Macapagal, R., Willingham, E., Baskin, L. S. (2007). *In utero* exposure to benzophenone-2 causes hypospadias through an estrogen receptor dependent mechanism. *Journal of Urology*, 178(4S), 1637–1642. <https://doi.org/10.1016/j.juro.2007.03.190>
44. Jeon, H.-K., Sarma, S.N., Kim, Y.-J., Ryu, J.-C. (2008). Toxicokinetics and metabolisms of benzophenone-type UV filters in rats. *Toxicology*, 248(2–3), 89–95. <https://doi.org/10.1016/j.tox.2008.02.009>
45. Ji, S., Zhang, J., Tao, G., Peng, C., Sun, Y., Hou, R. et al. (2019). Influence of heating source on the migration of photoinitiators from packaging materials into Tenax® and popcorn. *Food Packaging and Shelf Life*, 21, Article 100340. <https://doi.org/10.1016/j.fpsl.2019.100340>
46. Liang, Q., Wang, Z., Du, W., Liu, W., Cao, J., Ren, J. et al. (2022). Determination of 18 photoinitiators in food paper packaging materials by FastPrep-based extraction combined with GC–MS. *Food Chemistry*, 377, Article 131980. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.131980>
47. Abril, C., Santos, J. L., Martin, J., Aparicio, I., Alonso, E. (2020). Occurrence, fate and environmental risk of anionic surfactants, bisphenol A, perfluorinated compounds and personal care products in sludge stabilization treatments. *Science of the Total Environment*, 711, Article 135048. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.135048>
48. Macczak, A., Cyrkler, M., Bukowska, B., Michalowicz, J. (2017). Bisphenol A, bisphenol S, bisphenol F and bisphenol AF induce different oxidative stress and damage in human red blood cells (*in vitro* study). *Toxicology in Vitro*, 41, 143–149. <https://doi.org/10.1016/j.tiv.2017.02.018>
49. Zhang, Y.-F., Ren, X.-M., Li, Y.-Y., Yao, X.-F., Li, C.-H., Qin, Z.-F. et al. (2018). Bisphenol A alternatives bisphenol S and bisphenol F interfere with thyroid hormone signaling pathway *in vitro* and *in vivo*. *Environmental Pollution*, 237, 1072–1079. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2017.11.027>
50. Chen, D., Kannan, K., Tan, H., Zheng, Z., Feng, Y.-L., Wu, Y. et al. (2016). Bisphenol analogues other than BPA: Environmental occurrence, human exposure, and toxicity-A review. *Environmental Science and Technology*, 50(11), 5438–5453. <https://doi.org/10.1021/acs.est.5b05387>
51. Huang, Z., Zhao, J.-L., Yang, Y.-Y., Jia, Y.-W., Zhang, Q.-Q., Chen, C.-E. et al. (2020). Occurrence, mass loads and risks of bisphenol analogues in the Pearl River Delta region, South China: Urban rainfall runoff as a potential source for receiving rivers. *Environmental Pollution*, 263(Part B), Article 114361. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2020.114361>
52. Yan, Z., Liu, Y., Yan, K., Wu, S., Han, Z., Guo, R. et al. (2017). Bisphenol analogues in surface water and sediment from the shallow Chinese freshwater lakes: Occurrence, distribution, source apportionment, and ecological and human health risk. *Chemosphere*, 184, 318–328. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2017.06.010>
53. Zhao, X., Qiu, W., Zheng, Y., Xiong, J., Gao, C., Hu, S. (2019). Occurrence, distribution, bioaccumulation, and ecological risk of bisphenol analogues, parabens and their metabolites in the Pearl River Estuary, South China. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 180, 43–52. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2019.04.083>
54. Jin, H., Xie, J., Mao, L., Zhao, M., Bai, X., Wen, J. et al. (2020). Bisphenol analogue concentrations in human breast milk and their associations with post-natal infant growth. *Environmental Pollution*, 259, Article 113779. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2019.113779>
55. Li, A., Zhuang, T., Shi, W., Liang, Y., Liao, C., Song, M. et al. (2020). Serum concentration of bisphenol analogues in pregnant women in China. *Science of the Total Environment*, 707, Article 136100. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.136100>
56. Mendy, A., Salo, P. M., Wilkerson, J., Feinstein, L., Ferguson, K. K., Fessler, M. B. et al. (2020). Association of urinary levels of bisphenols F and S used as bisphenol A substitutes with asthma and hay fever outcomes. *Environmental Pollution*, 183, Article 108944. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2019.108944>
57. Cano-Nicolau, J., Valliant, C., Pellegrini, E., Charlier, T. D., Kah, O., Coumilleau, P. (2016). Estrogenic effects of several BPA analogs in the developing zebrafish brain. *Frontiers in Neuroscience*, 10, Article 112. <https://doi.org/10.3389/fnins.2016.00112>
58. Mokra, K., Kuźmińska-Surowaniec, A., Woźniak, K., Michałowicz, J. (2017). Evaluation of DNA-damaging potential of bisphenol A and its selected analogs in human peripheral blood mononuclear cells (*in vitro* study). *Food and Chemical Toxicology*, 100, 62–69. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2016.12.003>
59. Ali, N. F. M., Sajid, M., Abd Halim, W. I. T., Mohamed, A. H., Zain, N. N. M., Kamaruzaman, S. et al. (2023). Recent advances in solid phase extraction methods for the determination of bisphenol A and its analogues in environmental matrices: An updated review. *Microchemical Journal*, 184(Part A), Article 108158. <https://doi.org/10.1016/j.microc.2022.108158>
60. Yang, C., Wang, Y., Dong, P. Z., Li, Y., Pang, Y.-H. (2024). Determination of bisphenols in food and its contact materials migration by magnetic solid-phase extraction coupled with LC–MS/MS. *Food Bioscience*, 59, Article 104179. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2024.104179>
61. Guan, S., Wu, H., Yang, L., Wang, Z., Wu, J. (2020). Use of a magnetic covalent organic framework material with a large specific surface area as an effective adsorbent for the extraction and determination of six fluoroquinolone antibiotics by HPLC in milk sample. *Journal of Separation Science*, 43(19), 3775–3784. <https://doi.org/10.1002/jssc.202000616>
62. Tian, L., Zheng J., Pineda, M., Yargeau, V., Furlong, D., Chevrier J. et al. (2022). Targeted screening of 11 bisphenols and 7 plasticizers in food composites from Canada and South Africa. *Food Chemistry*, 385, Article 132675. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2022.132675>
63. Khan, M. R., Ouladsmame, M., Alammari, A. M., Azam, M. (2021). Bisphenol A leaches from packaging to fruit juice commercially available in markets. *Food Packaging and Shelf Life*, 28, Article 100678. <https://doi.org/10.1016/j.fpsl.2021.100678>
64. Cunha, S. C., Fernandes, J. O. (2013). Assessment of bisphenol A and bisphenol B in canned vegetables and fruits by gas chromatography – mass spectrometry after QuEChERS and dispersive liquid–liquid microextraction. *Food Control*, 33(2), 549–555. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2013.03.028>
65. Kumar, A., Singh, D., Bhandari, R., Malik, A. K., Kaur, S., Singh, B. (2023). Bisphenol A in canned soft drinks, plastic-bottled water, and household water tank from Punjab, India. *Journal of Hazardous Materials Advances*, 9, Article 100205. <https://doi.org/10.1016/j.hazadv.2022.100205>
66. Wang, Qi., Kaur, Y., Wu, Y., Li, S., Bai, H., Zhou, Q. (2023). β -Cyclodextrin functionalized magnetic polyamine-amine dendrimers for high enrichment and effective analysis of trace bisphenolic pollutants in beverages. *Chemosphere*, 328, Article 138537. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2023.138537>
67. Yao, K., Zhang, J., Niu, Y., Zhang, X., Yang, Y., Wu, Y. et al. (2023). Multi-immuno-affinity column for the simultaneous analysis of bisphenol A and its analogues in Chinese foods by liquid chromatography tandem mass spectrometry. *Food Chemistry*, 422, Article 136295. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2023.136295>

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ	AUTHOR INFORMATION
Принадлежность к организации	Affiliation
Утьянов Дмитрий Александрович — кандидат технических наук, научный сотрудник, лаборатория «Научно-методические работы, биологические и аналитические исследования», Федеральный научный центр пищевых систем им. В. М. Горбатова 109316, Москва, ул. Талалихина, 26 Тел.: +7-495-676-79-61 E-mail: d.utyantov@fncps.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0001-7693-3032 * автор для контактов	Dmitry A. Utyanov, Candidate of Technical Sciences, Scientific Worker, Laboratory of Scientific and Methodical Work, Biological and Analytical Research, V. M. Gorbatov Federal Research Center for Food Systems 26, Talalikhina str., 109316, Moscow, Russia Tel.: +7-495-676-79-61 E-mail: d.utyantov@fncps.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0001-7693-3032 * corresponding author
Вострикова Наталья Леонидовна — доктор технических наук, Руководитель Научно-исследовательского испытательного центра. Федеральный научный центр пищевых систем им. В. М. Горбатова 109316, Москва, ул. Талалихина, 26 Тел.: +7-495-676-79-61 E-mail: n.vostrikova@fncps.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0002-9395-705X	Natalia L. Vostrikova, Doctor of Technical Sciences, Head of the Research Testing Center, V. M. Gorbatov Federal Research Center for Food Systems 26, Talalikhina str., 109316, Moscow, Russia. Tel.: +7495-676-95-11, E-mail: n.vostrikova@fncps.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0002-9395-705X
Василевская Екатерина Романовна — кандидат технических наук, 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.: +7-495-676-79-61 E-mail: e.vasilevskaya@fncps.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0002-4752-3939	Ekaterina R. Vasilevskaya, Candidate of Technical Sciences, Scientific Worker, Experimental Clinic-Laboratory of Biologically Active Substances of Animal Origin, V. M. Gorbatov Federal Research Center for Food Systems 26, Talalikhina str., 109316, Moscow, Russia Tel.: +7-495-676-79-61 E-mail: e.vasilevskaya@fncps.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0002-4752-3939;
Куликовский Андрей Владимирович — кандидат технических наук, заведующий лабораторией «Научно-методические работы, биологические и аналитические исследования», Федеральный научный центр пищевых систем им. В. М. Горбатова 109316, Москва, ул. Талалихина, 26 Тел.: +7-495-676-79-81 E-mail: a.kulikovskii@fncps.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0002-9140-5390	Andrey V. Kulikovskii, Candidate of Technical Sciences, Head of Laboratory of Scientific and Methodical Work, Biological and Analytical Research, V. M. Gorbatov Federal Research Center for Food Systems 26, Talalikhina str., 109316, Moscow, Russia Tel.: +7-495-676-60-11 E-mail: a.kulikovskii@fncps.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0002-9140-5390
Карабанов Сергей Юрьевич — кандидат ветеринарных наук, 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.: +7-495-676-79-81 E-mail: s.karabanov@fncps.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0002-1688-4045	Sergey Yu. Karabanov, Candidate of Vet. Sciences, Scientific Worker, Experimental Clinic-Laboratory of Biologically Active Substances of Animal Origin, V. M. Gorbatov Federal Research Center for Food Systems 26, Talalikhina str., 109316, Moscow, Russia Tel.: +7-495-676-79-61 E-mail: s.karabanov@fncps.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0002-1688-4045
Критерии авторства	Contribution
Авторы в равных долях имеют отношение к написанию рукописи и одинаково несут ответственность за плагиат.	The author has the sole responsibility for writing the manuscript and is responsible for plagiarism.
Конфликт интересов	Conflict of interest
Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.	The authors declare no conflict of interest.

DOI: <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2025-8-1-36-41>



Received 28.10.2024

Accepted in revised 26.02.2025

Accepted for publication 04.03.2025

© Uvarov R. A., Ermochenko A. I., 2025

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

Review article

Open access

OPTIMIZATION OF AEROBIC FERMENTATION FOR ORGANIC WASTE: KEY FACTORS AND THEIR IMPACT ON THE QUALITY OF THE FINAL PRODUCT

Roman A. Uvarov, Alena I. Ermochenko*

ITMO University, Saint Petersburg, Russia

KEY WORDS: food waste, composting, factors of aerobic fermentation, rational regimes

ABSTRACT

In modern economic conditions, waste management and food security are important areas of sustainable development. Currently, there are many technologies for organic waste recycling. One common method of processing is aerobic fermentation. Food waste is difficult to process due to its physicochemical and organoleptic characteristics, unstable composition, high moisture, and various pH values. This significantly limits the choice of processing technologies. One way to improve efficiency is by combining different types of waste. This article analyzes the process of aerobic fermentation of mixed organic waste, and determines the parameters influencing the fermentation process (optimal temperature, presence of oxygen, and microorganisms). The key factors (moisture, acidity, carbon, and nitrogen ratio) influencing the production of a high-quality secondary product with high added value are defined, and the optimal ranges of these factors and methods for improving the conditions for starting the fermentation process of food waste in combination with other organic waste are determined. The scientific research has been conducted since the 1996 study to the present, with particular emphasis on the period 2012–2024. The main results of the study are confirmation that the optimal values of the initial criteria for food waste differ from the acceptable values of other organic waste. The key task in the preparation of organic mass is to determine the optimal ranges of factors and the content of various types of waste depending on the final goal and the choice of secondary product. The key task in preparing organic matter is to determine the optimal ranges of factors and the content of various types of waste depending on the final goal and the choice of secondary product. Information on the optimal indicators of the resulting product is provided. In addition, fermentation patterns and quality requirements for the final product, as well as six basic principles of this process, are found based on the analysis of factors.

Поступила 28.10.2024

Поступила после рецензирования 26.02.2025

Принята в печать 04.03.2025

© Уваров Р. А., Ермоchenко А. И., 2025

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

Обзорная статья

Open access

ОПТИМИЗАЦИЯ АЭРОБНОЙ ФЕРМЕНТАЦИИ ОРГАНИЧЕСКИХ ОТХОДОВ: КЛЮЧЕВЫЕ ФАКТОРЫ И ИХ ВЛИЯНИЕ НА КАЧЕСТВО КОНЕЧНОГО ПРОДУКТА

Уваров Р. А., Ермоchenко А. И.*

Университет ИТМО, Санкт-Петербург, Россия

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: АННОТАЦИЯ

пищевые отходы, компостирование, факторы аэробной ферментации, рациональные режимы

В современных экономических условиях важным направлением устойчивого развития является управление отходами и обеспечение продовольственной безопасности. В настоящее время существует множество технологий переработки органических отходов. Одним из распространенных методов переработки является аэробная ферментация. Пищевые отходы являются сложным для переработки материалом из-за своих физико-химических и органолептических характеристик, нестабильного состава, высокой влажности и различных значений pH. Это существенно ограничивает выбор технологий переработки. Одним из способов повышения эффективности является комбинирование различных видов отходов. В данной статье проанализирован процесс аэробной ферментации смешанных органических отходов и определены параметры, влияющие на процесс ферментации (оптимальная температура, наличие кислорода и микроорганизмов). Выявлены ключевые факторы (влажность, кислотность, соотношение углерода и азота), влияющие на получение высококачественного вторичного продукта с высокой добавленной стоимостью, установлены оптимальные диапазоны этих факторов и методы улучшения условий запуска процесса ферментации пищевых отходов в сочетании с другими органическими отходами. Научное исследование проводилось с 1996 года по настоящее время, с особым акцентом на период 2012–2024 гг. Основными результатами исследования являются подтверждение того, что оптимальные значения исходных критериев для пищевых отходов отличаются от допустимых значений других органических отходов. Ключевой задачей при подготовке органической массы является определение оптимальных диапазонов факторов и содержания различных видов отходов в зависимости от конечной цели и выбора вторичного продукта. Ключевой задачей при подготовке органического вещества является определение оптимальных диапазонов факторов и содержания различных видов отходов в зависимости от конечной цели и выбора вторичного продукта. Приведена информация об оптимальных показателях получаемого продукта. Кроме того, на основе анализа факторов выявлены закономерности ферментации и требования к качеству конечного продукта, а также шесть основных принципов этого процесса.

FOR CITATION: Uvarov, R. A., Ermochenko, A. I. (2025). Optimization of aerobic fermentation for organic waste: Key factors and their impact on the quality of the final product. *Food Systems*, 8(1), 36–41. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2025-8-1-36-41>

ДЛЯ ЦИТИРОВАНИЯ: Уваров, Р. А., Ермоchenко, А. И. (2025). Оптимизация аэробной ферментации органических отходов: ключевые факторы и их влияние на качество конечного продукта. *Пищевые системы*, 8(1), 36–41. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2025-8-1-36-41>

1. Introduction

The concept of sustainable development is a model of economic progress that focuses on reducing, reusing, and recycling resources to minimize waste generation. In the context of global environmental challenges such as climate change and depletion of natural resources, this concept is of particular importance for the food industry.

Recycling organic waste, including food waste, helps reduce greenhouse gas emissions resulting from the decomposition of organic materials in the landfills. In addition, recycling can become an additional source of raw materials to produce biogas, compost, and other valuable products, which helps reduce dependence on fossil resources and supports economic sustainability [1,2].

According to the World Health Organization (WHO), improper waste management can lead to serious environmental and health problems, including soil and water pollution, as well as the spread of infectious diseases. In the context of global warming and climate change, effective waste management becomes even more relevant [3]. A key aspect of sustainable development is the transformation of waste into new products or goods with increased added value, as well as their use as raw materials for other processes. Recycling food and organic waste is an important step in this direction. This leads to a reduction in waste disposal volumes and contributes to the formation of new business models based on the principles of closed production cycles [4].

The circular economy involves a transition from a linear model of consumption to a more sustainable system in which resources are reused and recycled. If we draw an analogy with the life cycle assessment of food products, then most often we observe a linear cycle called “Cradle-to-Grave” (C2G). In this case, organic products end up in landfills, and this approach is an ineffective concept in today's sustainable development realities [5,6]. The correct solution is the “Cradle-to-Cradle” approach (C2C), in this case, the waste is returned to the production cycle which includes the recycling process, which allows the waste to be reused [7,8].

With the increasing volume of organic waste generated by human activities, especially in urban and rural areas, there is a need for effective methods of recycling it. In this context, aerobic fermentation is a key element to ensure the circularity of production processes and maximize resource efficiency. In recent years, there has been a growing interest in developing new technologies and methods for intensifying the processes of aerobic decomposition of organic waste. Research shows that the use of modern approaches to managing the processes of organic waste utilization can significantly improve their efficiency. Numerous researches have established that in conditions of a complex natural climate, characterized by a long winter period, relatively low ambient temperatures, and high humidity, one of the most effective technologies for the bioconversion of organic waste is aerobic fermentation, carried out in closed installations [9–12]. Aerobic fermentation is a complex process characterized by dynamic changes caused by the interaction of various factors. The advantages of this technology are low energy intensity of the process, low capital and operating costs, the relative simplicity of the technology, higher quality characteristics of the final product, and relatively short processing times [13]. The resulting product (compost) has high added value and can be used as feed additives and bedding for animals or as the fertilizers for crop production, which provides a beneficial effect on the development of agriculture and reduces the load onto the environment [14].

The physicochemical and organoleptic characteristics of food waste significantly limit the choice of technologies for their processing. One option for increasing efficiency is the combinatorial selection of various types of waste. The combination of more than one raw material can provide a good opportunity to extract the benefits of each component and optimize the entire procedure. This method is applicable in terms of reducing the burden on the environment and economic efficiency [15]. The purpose of this article is to summarize the available data on the physical and chemical processes occurring in organic material, to analyze the factors of aerobic solid-phase fermentation of food waste, to determine their rational values and combinations allowing them to reduce processing time and the emission of nutrients into the environment while retaining or improving the quality of the final product.

2. Materials and methods

The object of research is the industry of processing organic waste by the method of aerobic fermentation, narrowing to food waste. Theoretical, fundamental, and applied research on specialized and related topics, which became the basis for systematized (generalized) data, were analyzed as research materials.

The search for sources was carried out using scientific databases Web of Science, Scopus, and Google Scholar and scientific electronic libraries CyberLeninka, eLIBRARY, as well as open Internet sources.

Data collection was carried out in Russian and English using the keywords: «компостирование» (“composting”), «переработка пищевых отходов» (“food waste processing”), «аэробная ферментация» (“aerobic fermentation”), «продовольственная безопасность» (“food safety”).

Theoretical methods such as analysis, synthesis, induction, deduction, comparative analysis, and systematization were used as research methods.

3. Main factors influencing the process of aerobic fermentation

In food systems, including agriculture, aerobic fermentation is a biochemical process of decomposing complex organic substances into simpler components using microorganisms and protein catalysts (enzymes) with a change in the physicochemical composition of the final product, which has certain humic properties and which is free from pathogenic microflora. The selected technology requires oxygen to start [16,17]. Optimization of this process allows to increase its efficiency, reduce processing time, and improve the quality of the final product (compost).

Although aerobic fermentation is a process that can occur naturally, it requires monitoring and control of several factors to ensure efficient processing. The ability to vary controllable factors distinguishes aerobic fermentation from long-term holding and active/passive composting. The advantage of this technology is that it imitates the natural habitat of most microorganisms, requires less energy for disinfection, and is less susceptible to bacterial contamination, which allows the use of solid agro-industrial waste as secondary material resources without increasing the moisture content of the final product. All these features lead to lower capital and operating costs, as well as reduced waste processing time and increased efficiency.

Depending on the purpose of the study, aerobic fermentation factors can be divided into process factors (temperature, O₂ content, etc.) and material factors (moisture, pH, C/N ratio, etc.), and they can also be considered as controlled, manageable, and optimizable factors.

3.1. Temperature

The temperature reached by the fermented material during the process of self-heating due to the activity of mesophilic and thermophilic microflora is the main indicator of the successful progress of the process. With an optimal ratio of factors, it is possible to increase the reaction rate and reduce the loss of nutrients in the final mixture. The main condition for the process of aerobic fermentation of organic waste is the passage through several main temperature phases, in which different communities of microorganisms predominate (Figure 1).

During the “active” stage of decomposition, two main phases occur — mesophilic and thermophilic ones, where microorganisms decompose available organic material and their population increases, thus releasing heat that accumulates inside the mass. The mesophilic phase begins almost immediately, and the temperature in the mass gradually increases to the mesophilic range (from 40 °C to 55 °C). This period is marked by accelerated metabolism in microorganisms, with intensive decomposition of organic matter, the release of carbon dioxide and heat, and an increase in the level of available nitrogen, all of which promote the growth of the microbial population [19].

Next, the thermophilic phase comes. It is characterized by an increase of temperature up to 70 °C with duration of 5 to 25 days or more. Under such temperature and time conditions, complex organic compounds (for example, cellulose and lignin) undergo intensive decomposition, pathogenic microorganisms are destroyed at high temperatures, and the volume of the initial raw material is significantly reduced [20,21].

After completion of the active stage, the cooling process begins. The decomposition of the remaining organic matter continues, and the diversity of the microbial population increases, which contributes to a more

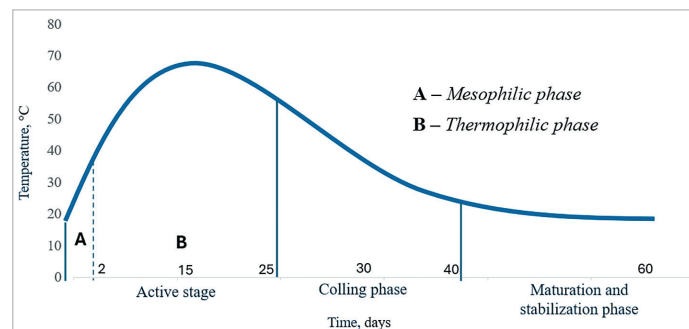


Figure 1. Dynamics of the aerobic fermentation process [18]

Рисунок 1. Динамика процесса аэробной ферментации [18]

complete decomposition of the remains; humic substances are formed, which improves the quality of the final product. Mesophilic microorganisms begin to dominate again at a comfortable temperature for them (from 40 °C to 55 °C) [22,23].

The final stage is maturation and stabilization with relatively low microbial activity and temperature, compared to the previous stages. This indicates the completion of biochemical processes, stable organic compounds are also formed, and the characteristic smell of finished compost appears [24]. The entire process of decomposition of organic matter occurs with the emission of carbon (in the form of CO₂) and nitrogen (in the form of NH₃) into the atmosphere in varying volumes [25].

The process of recycling food waste by aerobic fermentation may become less efficient due to the long-term prevalence of the same temperature regime:

- ❑ at temperatures below 30 °C, microbial metabolism slows down, resulting in longer fermentation times and a decrease in the overall efficiency of the process. The development of pathogenic microorganisms and weed seeds is also possible, which can negatively affect the quality of the compost;
 - ❑ if temperatures above 60 °C persist for a long time, the activity of most mesophilic microorganisms decreases and protein denaturation begins, which can also slow down the decomposition process. Although thermophilic bacteria continue to function, too high a temperature can negatively affect their activity and lead to a decrease in the biodiversity of the microbial population.
- The ability to control and manage temperature is a prerequisite for controlled aerobic fermentation:
- ❑ installation of thermometers or temperature sensors allows for real-time temperature monitoring;
 - ❑ regulation of air flow helps to maintain the optimum temperature through heat exchange and prevention of overheating, in addition, in the biooxidation phase it is necessary to provide microorganisms with a sufficient amount of oxygen, and in the maturation phase it is necessary to remove excessive heat by evaporating moisture from the processed material;
 - ❑ regular mixing of the processed mass using specialized equipment promotes uniform heat distribution and prevents the formation of “anaerobic loci”;
 - ❑ to protect from the external environment and changing weather conditions, insulating materials or special structures are used for the aerobic fermentation process.

3.2. Microorganisms

The entire process of aerobic fermentation is regulated by microbial activity aimed at ensuring the decomposition of complex organic compounds and their transformation into simpler substances. Microorganisms actively synthesize specific enzymes that decompose organic substrates into water and carbon dioxide. This leads to a decrease in the volume of waste and the formation of humus — an important component of finished high-quality compost. Aerobic microorganisms help destroy pathogenic bacteria and helminth eggs due to the heat released during the fermentation process. The temperature can reach 60–70 °C, which ensures sterilization of the material and increases the safety of the final product (finished compost). As a result of the activity of microorganisms, compost is enriched with macro- and microelements (N, P, K), which makes it a valuable fertilizer for agriculture.

To speed up and regulate the process, it is important to control microorganisms at various stages. The microbial community structure is critical for determining the maturity of the organic matter as it will change and evolve during the fermentation process. Chemical and biological changes during composting of various organic wastes indicate a change in the microbial population depending on the temperature reached during composting [26–28].

During the mesophilic phase (at temperatures of 40–55 °C) fungi predominate (*Penicillium citrinum*, *Rhizopus nigricans*, *Aspergillus flavus*, *Aspergillus niger*) [20] and acid-forming bacteria (*Lactobacillus* spp. and *Acetobacter* spp.), and also *Amycolicococcus subflavus*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus polymyxa*, *Mycobacterium xenopi*, *Mycobacterium thermoresistibil* [20].

At the active stage of the thermophilic phase (up to a temperature of 70 °C), *Talaromyces thermophilus*, *Talaromyces* sp., *Thermomyces* sp. (fungi), *Kyriopsis tusciae*, *Mahella australiensis*, *Solibacillus silvestris*, *Thermomonospora curvata* (bacteria) are of great importance [21]. When the temperature decreases, the microorganisms are again replaced by mesophilic ones and completely disappear at the final stage of maturation and stabilization.

Aerobic bacteria are the main participants in the process of aerobic fermentation. They use oxygen for respiration and decomposition of or-

ganic matter. Microorganisms feed on dead organic matter and promote its decomposition, secreting enzymes that break down complex molecules into simpler ones, which facilitates further absorption of products by other microorganisms (for example, saprophytic bacteria). Another part of microorganisms (for example, azotobacters) plays an important role in the nitrogen cycle, fixing atmospheric nitrogen and converting it into forms accessible to plants and thus helping improve the structure of compost, increasing its nutritional value.

Fungi are also involved in the process of decomposition of organic matter. They are able to decompose cellulose and lignin, which makes them indispensable for the processing of organic residues. Fungal mycelia form a network that promotes the aggregation of compost particles, improving its structure and aeration.

Finally, after the aerobic fermentation is over due to the action of the above specified microorganisms, organic waste is converted into mature organic mass, which can then be used as a fertilizer or as a substrate for feed additives or as animal bedding — a useful secondary organic product.

3.3. Moisture

Paying attention to the substrate moisture as one of the factors of the fermentation process, it was found that with an optimal ratio of factors the moisture decreases during the thermophilic phase when the temperature begins to increase during the fermentation of organic waste [29]. This factor directly determines the activity of microorganisms, the rate of decomposition of organic materials, and the quality of the finished compost.

When there is a lack of moisture (below 50%), the metabolic activity of microorganisms slows down. This leads to a decrease in the rate of decomposition of organic materials, an increase in fermentation time, and a deterioration in the quality of the compost. In conditions of insufficient moisture, the risk of developing anaerobic processes also increases, which can cause the accumulation of unpleasant odors and toxic substances.

When the moisture level, on the contrary, is excessive (more than 65%), negative consequences are possible, such as “flooding” of the fermented mass and lack of oxygen. This leads to the transition of the process to the anaerobic mode, which reduces the efficiency of decomposition and worsens the sanitary characteristics of the final product. Anaerobic conditions contribute to the formation of methane and other volatile organic compounds, which negatively impact the environment.

Various methods can be used to ensure optimal moisture levels during aerobic fermentation:

- ❑ adjusting the composition of the source material by mixing components with different moisture contents (e. g. sawdust, coal, green-cut fodder, kitchen waste, etc.) allows achieving the optimal moisture level;
- ❑ watering the fermented mass to maintain the required level of moisture. However, excessive watering should be avoided, as this can lead to overwatering;
- ❑ Regular mixing of the compost mass to ensure even distribution of moisture and prevent the formation of “dry” or “wet” zones.

When measuring the parameters, authors most often determine only the initial moisture content in organic waste [30,31]. At the initial stage, some authors measure the moisture content of each type of waste in the organic mass of the waste. For example, in [32] mixed organic waste was processed in a reactor with a fan and a grinder using aerobic fermentation technology. The initial moisture content of certain types of mixed waste was in the ranges from 7–15% (garden waste) and 8–11% (rice husks) to 70–80% (food waste). Measuring the moisture content of individual types of mixed waste makes it difficult to analyze the fermentation process and identify new patterns in the influence of moisture on the production of new products with high added value.

However, several recent research [33,34] note the importance of the total initial moisture content of organic waste and the final moisture content of the resulting product. The initial moisture content varies from 7–15% for certain types (e. g. rice husks and sawdust). On average, the overall values are 50–55%. The highest moisture content is 83.6%, which is reduced by adding coal to food waste, the share of coal in the total mass is 10–15% [35].

Effective moisture management through monitoring and regulation of fermentation conditions can significantly improve the recycling results of organic waste and ensure sustainable production of high-quality compost.

3.4 Acidity/pH level

For most aerobic microorganisms, the optimal pH level is in the range of 5.5–8.0. Within this interval, the maximum activity of bacteria and fungi is achieved, which contributes to the effective decomposition of organic matter.

When the acidity value does not reach the optimal range (pH below 5.5), the activity of many beneficial microorganisms is suppressed. This leads to a slowdown in the decomposition process and a decrease in the overall efficiency of fermentation. Low acidity promotes the development of pathogenic bacteria, which negatively affects the sanitary characteristics of the final product.

Under circumstances where acidity values are higher than permissible level (pH is more than 8.0), a decrease in the activity of aerobic bacteria and fungi is observed. High alkalinity leads to protein denaturation and inhibition of metabolic processes, which negatively affects the decomposition of organic matter.

In aerobic fermentation of food waste, aerobic microorganisms develop differently depending on the pH level. For example, mesophilic bacteria generally grow better under neutral conditions (pH around 7), while some thermophilic species may be more tolerant to pH fluctuations.

Unlike the moisture factor, the pH level is mainly determined at the beginning and end of the fermentation process [36]. For example, in 2019, food waste (vegetables, fruit peels, coffee grounds, eggshells, and tea leaves) with fillers to increase porosity and reduce moisture (chopped wheat straw, sawdust, rice bran, corn stalks) was analyzed. The technology chosen was aerobic fermentation with a rotating container. In the research, the pH level was shown to increase from 1.1 to 8.5 [37]. However, in some cases, the initial determination of the indicator is made for individual types of waste, which are then combined. For example, when processed by aerobic fermentation with a stirrer and a fan, food waste (rice, noodles, vegetables, meat, and seafood) had an acidity pH of 3.8–6.5; garden waste (raked leaves and mown grass) — had 5.8–6.6; and rice husks with an acidity of 7.1 — had 7.3. After maturing the mixed waste, the acidity of the product was pH 3.8–8.9 [38].

To optimize the process of aerobic fermentation and stabilize the level of porosity and pH acidity, fillers are added to food waste. For example, dry sawdust and MgO and K_2HPO_4 are added to food waste (bread, rice, cabbage, and boiled pork) [29], in another study, the same author adds lime to the above-mentioned mass [30].

Thus, the initial pH level varies from 2 to 7, generally the lowest value being for food waste (as a separate type during subsequent mixing) and the highest being for food waste with fillers (for example, lime, sawdust, biochar, etc.) [34]. The average value is for mixed waste (e. g. food together with garden waste) [39,40]. At the end of the fermentation process, the pH value is fixed at 4–9.

In addition to stirring the fermentation mixture and monitoring the pH level, other methods are possible to regulate this factor:

- ❑ in case of deviation from the optimal pH level, “correctors” are used (sulfuric or citric acid is added to increase acidity, and lime or dolomite flour is added to decrease it);
- ❑ to adjust the acidity of the mass, various components with different pH values are mixed (for example, adding green plant residues reduces the pH level due to the release of organic acids).

3.5. C/N ratio

It is impossible to identify any single factor characterizing the efficiency of biothermal processes, but many researchers agree that one of the key parameters is the carbon-to-nitrogen ratio (C/N). This factor plays an important role in creating a high-quality secondary product with high added value since the basis of the aerobic fermentation process is biological decomposition, and with the correct ratio, microorganisms actively decompose organic matter and synthesize humus [26–28,41,42]. When analyzing scientific sources, it was revealed that the authors pay the greatest attention to this factor [44]. Of particular importance are the proportions of C and N in materials assigned for aerobic fermentation. C is the main source of energy and an elemental component for microorganisms, and N is necessary for the growth of microbes, and the synthesis of amino acids, proteins, and nucleic acids. The C/N ratio during composting affects the rate of decomposition. Higher values slow down the rate of decomposition, while lower values increase N losses.

When the carbon to nitrogen (C/N) ratio is too high (e. g. above 35), microorganisms are starved of available nitrogen, which can lead to a condition known as “nitrogen starvation”. Under these conditions, the decomposition of organic matter slows down and some nitrogen is lost as gases such as ammonia (NH_3) and nitrous oxide (N_2O). This negatively affects the efficiency of waste disposal and degrades the sanitary properties of the finished compost.

On the other hand, if the ratio is too low (e. g. below 15), there is excessive loss of nitrogen into the atmosphere, which reduces the nutritional properties of the final product and increases the emission of unwanted gases into the environment. Also, high ammonia content causes unpleasant odors [45].

In the case of the C/N ratio factor, the authors measure this indicator less frequently for individual components of organic waste. An example is research on the processing of organic waste by the method of aerobic fermentation with a mixer and a fan of food waste (C/N — 8.85) together with garden waste (C/N — 52.4) and a filler in the form of rice husk (C/N — 34.2). The final product has a C/N ratio of 14.5–19.6 which is confirmed by several experimental studies [32].

To achieve the desired C/N ratio, it is recommended to mix materials with a high carbon content (such as straw, sawdust, or wood chips) with nitrogen-containing components (manure or sewage sludge). If the C/N ratio is higher than the acceptable one, urea or superphosphate is added to increase the content of available nitrogen. This method helps to prevent “nitrogen starvation” of microorganisms and accelerates the decomposition process. Atmospheric nitrogen fixation is possible by adding an inoculum (a specific microbial population) to prevent a lack of available nitrogen.

3.6. Initial characteristics of aerobic fermentation factors

Each of the identified factors plays a critical role in determining the rate of decomposition of organic materials and the quality of the final product.

Maintaining optimal conditions for certain parameters accelerates the decomposition process and improves the nutritional properties of the compost. For example, the correct C/N ratio ensures active reproduction of microorganisms, and control over the pH and moisture levels prevents the development of pathogenic organisms and improves the sanitary characteristics of compost.

The method of solid-phase aerobic fermentation is one of the most promising approaches to processing food waste, especially in the conditions of the northwestern region. The main task in the preparation of organic matter is to determine the optimal ranges of factors and composition of waste types, depending on the final goal (Table 1). This allows obtaining a secondary product with high added value, which makes the process more economically advantageous.

It has been found that the processing of food waste by aerobic fermentation cannot be carried out without mixing with other organic waste or without adding a filler. These manipulations play an important role in optimizing the value of the main factors of the fermentation process — the C/N ratio, moisture, and pH. In addition, food waste types also has different values of the factors among themselves. This shows the main difference between food waste and other organic matter, which must be considered when approving the optimal ranges for each type of initial mass.

Table 1. Initial characteristics of aerobic fermentation factors of mixed organic waste

Таблица 1. Начальные характеристики факторов аэробной ферментации смешанных органических отходов

Factor	Designation	Measurement units	Acceptable value of organic waste [27]	Optimal value of food waste	Source
Moisture	W	%	40–75	50–55	[29–35]
Acidity	pH	—	5,5–9	4,5–6	[36–40]
C/N ratio	C/N	—	20–40	25–35	[44,45]

It was found that when the moisture content of organic waste is high, it is necessary to add biochar, rice husks, or sawdust. In addition to improving moisture content, it also increases the porosity of the organic matter, which has a positive effect on the fermentation process. The porous structure improves aeration, providing the necessary oxygen access for microorganisms, which is critical for maintaining the aerobic process.

At low pH values, it is recommended to add lime, potassium phosphate (K_2HPO_4), or sodium acetate (NaAc). These additives help neutralize acidity and create more favorable conditions for the life of beneficial microorganisms. Carbon to nitrogen (C/N) ratios can be adjusted by adding organic waste of a different composition, which simultaneously helps control the moisture content of the mass.

3.7. Assessment of the quality of the resulting product

Assessing the quality of the resulting compost substrate is an important stage in the process of its production, as it determines its suitability for use in the agro-industrial sector and agriculture. The quality of compost affects its nutritional properties, environmental safety, and the health of the fertilized plants.

The main requirement for the safe use of the resulting product is a high degree of stability and maturity. This is manifested in a relatively constant content of organic matter, the absence of phytotoxic compounds, and pathogenic microflora. Substrate maturity is assessed by its

potential for plant growth, whereas stability is related to the level of microbial activity. These two terms are often used interchangeably because phytotoxic compounds are produced by microorganisms under unstable substrate conditions [46,47].

Substrate maturity indicators are based on various properties: physical, chemical, and biological, including microbial activity (Table 2). Physical characteristics such as color, odor, and temperature provide a general idea of the stage of decomposition achieved but provide insufficient information on the degree of maturation [48]. Mature compost should have a uniform, loose texture, dark color (brown to black), and an earthy odor. The presence of large particles or foreign materials may indicate insufficient decomposition. A dense or lumpy structure may indicate insufficient aeration during the fermentation process. Unpleasant odors (ammonia or rot) indicate problems with aerobic activity or the presence of pathogens.

Table 2. Indicators of mature compost
Таблица 2. Показатели зрелого компоста

Indicator	Unit of measurement	Value	Source
Organic matter content	%	>30	[31–34]
C/N ratio	—	10–15:1	[37,38]
pH	—	6–8	[44,45]
Pathogenic microflora	pcs/cm ³	<1	[20,21]
Availability of plant seeds	—	are missed	[46,47]
Ammonia smell	—	are missed	[48]

Compost should contain essential microelements such as iron, copper, and zinc in concentrations that are safe for plants. Heavy metals and toxic substances should be kept to a minimum to avoid negative impacts on plants and the ecosystem. The study of the chemical composition, in particular the C/N ratio in the solid fraction and liquid extract, the content of water-soluble carbon, the ratio of water-soluble carbon to water-soluble nitrogen, the presence of volatile organic acids, and the determination of the stage of nitrification and denitrification processes is possible only in analytical laboratories [26–28,41]. The finished secondary product must be free of pathogenic microorganisms and weed seeds. For this purpose, it is important to control the temperature regime during the composting process, as

high temperatures contribute to the destruction of pathogens. The main indicator of the biological maturity of a substrate is its microbiological stability: the amount of microbial biomass and its metabolic activity, as well as the concentration of easily biodegradable compounds [26–28,41–43].

To check the quality of the final product (compost), laboratory tests are carried out to determine the content of essential nutrients (nitrogen, phosphorus, potassium) and microelements (iron, copper, zinc). This chemical analysis allows establishing the benefits of application of the product into the soil. The presence of heavy metals (lead, cadmium, mercury) and toxic compounds (e. g. pesticides) is determined using toxicological analysis to assess the safety of the compost mixture and its impact on the environment.

Microbiological analysis is carried out to detect the presence of pathogenic microorganisms (e. g. *E. coli*, *Salmonella*) and weed seeds to confirm the sanitary safety of the compost.

4. Conclusions

Optimization of aerobic fermentation of organic waste is an important task that has high significance for sustainable waste management. This article reviewed key factors affecting the aerobic fermentation process, such as temperature, humidity, pH, carbon-nitrogen ratio (C/N), and the role of microorganisms.

This process is an important step towards efficient resource management and reduced environmental impact. Using high-quality compost helps increase agricultural productivity and improve soil health.

In addition, based on the analysis of the factors and patterns of fermentation and the requirements for the quality of the final product, six basic principles of this process are defined:

1. Determining the purpose of the product with a clear understanding of what the final product will be used for.
2. Selection of technology considering the natural, climatic, and sanitary conditions of the region.
3. Optimization of the initial raw materials through the selection of their physicochemical characteristics, such as the adjusting its carbon-to-nitrogen ratio, pH level, moisture, and porosity.
4. Monitoring fermentation processes such as regular checking up of temperature, humidity, oxygen content, and gas emissions.
5. Control of the fermentation process by stimulating the processes with aeration and stirring.
6. Quality control by analyzing the final product for nutrient content and the absence of pathogenic microflora.

REFERENCES / БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Kannah, R. Y., Merrylin, J., Devi, T. P., Kavitha, S., Sivashanmugam, P., Kumar, G. et al. (2020). Food waste valorization: Biofuels and value added product recovery. *Bioresour. Technology Reports*, 11, Article 100524. <https://doi.org/10.1016/j.biteb.2020.100524>
2. Galanakis, C. M., Cvejic, J., Verardo, V., Segura-Carretero, A. (2022). Food use for social innovation by optimizing food waste recovery strategies. Chapter in a book: *Innovation strategies in the food industry*. Academic Press, 2022. <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-85203-6.00016-5>
3. Dey, T., Bhattacharjee, T., Nag, P., Ritika, Ghata, A., Kuila, A. (2021). Valorization of agro-waste into value added products for sustainable development. *Bioresour. Technology Reports*, 16, Article 100834. <https://doi.org/10.1016/j.biteb.2021.100834>
4. Santagata, R., Ripa, M., Genovese, A., Ulgiati, S. (2021). Food waste recovery pathways: Challenges and opportunities for an emerging bio-based circular economy. A systematic review and an assessment. *Journal of Cleaner Production*, 286, Article 125490. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2020.125490>
5. Zhu, J., Luo, Z., Sun, T., Li, W., Zhou, W., Wang, X. et al. (2023). Cradle-to-grave emissions from food loss and waste represent half of total greenhouse gas emissions from food systems. *Nature Food*, 4(3), 247–256. <https://doi.org/10.1038/s43016-023-00710-3>
6. Ashokkumar, V., Flora, G., Venkatkarthick, R., SenthilKannan, K., Kuppan, C., Stephy, G. M. et al. (2022). Advanced technologies on the sustainable approaches for conversion of organic waste to valuable bioproducts: Emerging circular bioeconomy perspective. *Fuel*, 324(Part B), Article 124313. <https://doi.org/10.1016/j.fuel.2022.124313>
7. Mohajan, H. K. (2021). Cradle to cradle is a sustainable economic policy for the better future. *Annals of Spiru Haret University. Economic Series*, 21(4), 569–582. <https://doi.org/10.26458/21433>
8. Юганова, Т. И. (2020). Методология экологической оценки жизненного цикла твердых коммунальных отходов. Основные положения и примеры применения. *Геоэкология. Инженерная геология, гидрогеология, геокриология*, 5, 3–23. [Yuganova, T.I. (2020). Methodology of assessing the environmental life cycle of municipal solid waste. Conceptual issues and examples of application. *Geoekologiya. Inzheneraya Geologiya, Gidrogeologiya, Geokriologiya*, 5, 3–23. (In Russian)] <https://doi.org/10.31857/s0869780920050094>
9. Uvarov, R., Briukhanov, A., Shalavina, E. (May 25–27, 2016). Study results of mass and nutrient loss in technologies of different composting rate: Case of bedding poultry manure. 15th International scientific conference on engineering for rural development. Latvia University of Agriculture, 2016.
10. Qi, J., Yang, H., Wang, X., Zhu, H., Wang, Z., Zhao, C. et al. (2023). State-of-the-art on animal manure pollution control and resource utilization. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 11(5), Article 110462. <https://doi.org/10.1016/j.jece.2023.110462>
11. Фомичева, Н. В., Рабинович, Г. Ю., Прутенская, Е. А., Смирнова, Ю. Д. (2021). Микробиологическая оценка процесса ускоренной твердофазной ферментации органического сырья. *Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология*, 11(2(37)), 236–243. [Fomicheva, N.V., Rabinovich, G. Yu., Pruten-skaya, E.A., Smirnova, Yu. D. (2021). Microbiologic assessment of accelerated solid-state fermentation of agricultural organic wastes. *Proceedings of Universities. Applied Chemistry and Biotechnology*, 11(2(37)), 236–243. (In Russian)] <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2021-11-2-236-243>
12. Li, Y., Chen, Z., Peng, Y., Zheng, K., Ye, C., Wan, K. et al. (2020). Changes in aerobic fermentation and microbial community structure in food waste derived from different dietary regimes. *Bioresour. Technology*, 317, Article 123948. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2020.123948>
13. Bakharev, V. V., Mityashin, G. Y., Stepanova, T. V. (2023). Food security, food waste and food sharing: The conceptual analysis. *Food Systems*, 6(3), 390–396. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2023-6-3-390-396>
14. Awasthi, S. K., Sarsaiya, S., Awasthi, M. K., Liu, T., Zhao, J., Kumar, S. et al. (2020). Changes in global trends in food waste composting: Research challenges and opportunities. *Bioresour. Technology*, 299, Article 122555. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2019.122555>
15. Трухачев, В. И., Злыднев, Н. З., Злыднева, Р. М. (2015). Производство и использование органических удобрений. *Аграрный вестник Северного Кавказа*, S2, 120–131. [Trukhachev, V. I., Zlydnev, N. Z., Zlydneva, R. M. (2015). Organic Fertilizer Manufacturing. *Agrarian Bulletin of the North Caucasus*, S2, 120–131. (In Russian)]
16. Zhang, X., Zhang, M., Zhang, H., Jiang, Z., Liu, C., Cai, W. (2020). A review on energy, environment and economic assessment in remanufacturing based on life cycle assessment method. *Journal of Cleaner Production*, 255, Article 120160. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2020.120160>
17. Lee, C. H., Park, S. J., Kim, M. S., Yun, S. G., Ko, B. G., Lee, D. B. et al. (2015). Characteristics of compost produced in food waste processing facility. *Korean Journal of Agricultural Science*, 42(3), 177–181. <https://doi.org/10.7744/cnu-jas.2015.42.3.177> (In Korean)

18. Keener, H. M., Dick, W. A., Hoitink, H. A. J. (2000). Composting and beneficial utilization of composted by-product materials. Chapter in a book: Land application of agricultural, industrial, and municipal by-products. Soil Science Society of America, 2000. <https://doi.org/10.2136/sssabookser6.c10>
19. Fernandez-Bayo, J. D., Yazdani, R., Simmons, C. W., VanderGheynst, J. S. (2018). Comparison of thermophilic anaerobic and aerobic treatment processes for stabilization of green and food wastes and production of soil amendments. *Waste Management*, 77, 555–564. <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2018.05.006>
20. Петрунина, И. В., Горбунова, Н. А. (2024). Использование модели экономики замкнутого цикла в отдельных отраслях агропромышленного комплекса. *Пищевые системы*, 7(2), 231–237. [Петрунина, И. В., Горбунова, Н. А. (2024). Using the model of closed-loop economy in certain branches of the agro-industrial complex. *Food Systems*, 7(2), 231–237. (In Russian)] <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2024-7-2-231-237>
21. Martins, S., Mussatto, S. I., Martínez-Avila, G., Montañez-Saenz, J., Aguilar, C. N., Teixeira, J. A. (2011). Bioactive phenolic compounds: Production and extraction by solid-state fermentation. A review. *Biotechnology Advances*, 29(3), 365–373. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2011.01.008>
22. Stentiford, E. I. (1996). Composting control: Principles and practice. Chapter in a book: *The Science of Composting*, Part, 1. Springer Dordrecht, 1996. https://doi.org/10.1007/978-94-009-1569-5_6
23. Sayara, T., Basheer-Salimia, R., Hawamde, F., Sánchez, A. (2020). Recycling of organic wastes through composting: Process performance and compost application in agriculture. *Agronomy*, 10(11), Article 1838. <https://doi.org/10.3390/agronomy10111838>
24. Ayilara, M. S., Olanrewaju, O. S., Babalola, O. O., Odeyemi, O. (2020). Waste management through composting: Challenges and potentials. *Sustainability*, 12(11), Article 4456. <https://doi.org/10.3390/su12114456>
25. Hoang, H. G., Thuy, B. T. P., Lin, C., Vo, D. -V. N., Tran, H. T., Bahari, M. B. et al. (2022). The nitrogen cycle and mitigation strategies for nitrogen loss during organic waste composting: A review. *Chemosphere*, 300, Article 134514. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2022.134514>
26. Karnchanawong, S., Nissaiakla, S. (2014). Effects of microbial inoculation on composting of household organic waste using passive aeration bin. *International Journal of Recycling of Organic Waste in Agriculture*, 3, 113–119. <https://doi.org/10.1007/s40093-014-0072-0>
27. Koul, B., Yakoob, M., Shah, M. P. (2022). Agricultural waste management strategies for environmental sustainability. *Environmental Research*, 206, Article 112285. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2021.112285>
28. Caricasole, P., Provenzano, M. R., Hatcher, P. G., Senesi, N. (2010). Chemical characteristics of dissolved organic matter during composting of different organic wastes assessed by ¹³C CPMAS NMR spectroscopy. *Bioresource technology*, 101(21), 8232–8236. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2010.05.095>
29. Wang, X., Selvam, A., Wong, J. W. C. (2016). Influence of lime on struvite formation and nitrogen conservation during food waste composting. *Bioresource Technology*, 217, 227–232. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2016.02.117>
30. Wang, X., Selvam, A., Chan, M., Wong, J. W. C. (2013). Nitrogen conservation and acidity control during food wastes composting through struvite formation. *Bioresource Technology*, 147, 17–22. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2013.07.060>
31. Awasthi, M. K., Selvam, A., Lai, K. M., Wong, J. W. (2017). Critical evaluation of post-consumption food waste composting employing thermophilic bacterial consortium. *Bioresource Technology*, 245 (Part A), 665–672. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2017.09.014>
32. Kumar, M., Ou, Y. -L., Lin, J. -G. (2010). Co-composting of green waste and food waste at low C/N ratio. *Waste Management*, 30(4), 602–609. <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2009.11.023>
33. Chang, J. I., Chen, Y. J. (2010). Effects of bulking agents on food waste composting. *Bioresource Technology*, 101(15), 5917–5924. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2010.02.042>
34. Nguyen, M. K., Lin, C., Hoang, H. G., Sanderson, P., Dang, B. T., Bui, X. T. et al. (2022). Evaluate the role of biochar during the organic waste composting process: A critical review. *Chemosphere*, 299, Article 134488. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2022.134488>
35. Waqas, M., Nizami, A. S., Aburizaiza, A. S., Barakat, M. A., Ismail, I. M. I., Rashid, M. I. (2018). Optimization of food waste compost with the use of biochar. *Journal of Environmental Management*, 216, 70–81. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2017.06.015>
36. Hamid, H. A., Qi, L. P., Harun, H., Sunar, N. M., Ahmad, F. H., Muhamad, M. S. et al. (2019). Development of organic fertilizer from food waste by composting in UTHM campus Pagoh. *Journal of Applied Chemistry and Natural Resources*, 1(1), 1–6.
37. Chaher, N. E. H., Chakchouk, M., Engler, N., Nassour, A., Nelles, M., Hamdi, M. (2020). Optimization of food waste and biochar in-vessel co-composting. *Sustainability*, 12(4), Article 1356. <https://doi.org/10.3390/su12041356>
38. Siles-Castellano, A. B., López, M. J., Jurado, M. M., Suárez-Estrella, F., López-González, J. A., Estrella-González, M. J. et al. (2020). Industrial composting of low carbon/nitrogen ratio mixtures of agri-food waste and impact on compost quality. *Bioresource Technology*, 316, Article 123946. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2020.123946>
39. Zhou, Y., Selvam, A., Wong, J. W. C. (2018). Chinese medicinal herbal residues as a bulking agent for food waste composting. *Bioresource Technology*, 249, 182–188. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2017.09.212>
40. Sundberg, C., Franke-Whittle, I. H., Kauppi, S., Yu, D., Romantschuk, M., Insam, H. et al. (2011). Characterisation of source-separated household waste intended for composting. *Bioresource Technology*, 102(3), 2859–2867. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2010.10.075>
41. Chang, H. -q., Zhu, X. -h., Wu, J., Guo, D. -y., Zhang, L. -h., Feng, Y. (2021). Dynamics of microbial diversity during the composting of agricultural straw. *Journal of Integrative Agriculture*, 20(5), 1121–1136. [https://doi.org/10.1016/S2095-3119\(20\)63341-X](https://doi.org/10.1016/S2095-3119(20)63341-X)
42. Pane, C., Sorrentino, R., Scotti, R., Molisso, M., Di Matteo, A., Celano, G. et al. (2020). Alpha and beta-diversity of microbial communities associated to plant disease suppressive functions of on-farm green composts. *Agriculture*, 10(4), Article 113. <https://doi.org/10.3390/agriculture10040113>
43. Li, P., Lin, W., Liu, X., Wang, X., Luo, L. (2016). Environmental factors affecting microbiota dynamics during traditional solid-state fermentation of Chinese Daqu starter. *Frontiers in Microbiology*, 7, Article 1237. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.01237>
44. Li, Z., Lu, H., Ren, L., He, L. (2013). Experimental and modeling approaches for food waste composting: A review. *Chemosphere*, 93(7), 1247–1257. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2013.06.064>
45. Azim, K., Soudi, B., Boukhari, S., Perissol, C., Roussos, S., Alami, I. T. (2018). Composting parameters and compost quality: A literature review. *Organic Agriculture*, 8, 141–158. <https://doi.org/10.1007/s13165-017-0180-z>
46. Iannotti, D. A., Pang, T., Toth, B. L., Elwell, D. L., Keener, H. M., Hoitink, H. A. J. (1993). A quantitative respirometric method for monitoring compost stability. *Compost Science and Utilization*, 1(3), 52–65. <https://doi.org/10.1080/1065657X.1993.10757890>
47. Zucconi, F., Pera, A., Forte, M., de Bertoldi, M. (1981). Evaluating toxicity of immature compost. *BioCycle*, 22, 54–57.
48. Oshins, C., Michel, F., Louis, P., Richard, T. L., Rynk, R. (2022). The composting process. Chapter in a book: *The composting handbook*. Academic Press, 2022. <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-85602-7.00008-X>

AUTHOR INFORMATION		СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ	
Affiliation		Принадлежность к организации	
Roman A. Uvarov , Candidate of Technical Sciences, Docent, Faculty of Ecotechnologies, ITMO University Kronverksky pr., 49, lit. A, St. Petersburg, 197101, Russia Tel.: +7-953-165-58-92 E-mail: rauvarov@itmo.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0002-2792-0136		Роман Алексеевич Уваров — кандидат технических наук, доцент, факультет экотехнологий, Национальный исследовательский университет ИТМО 197101, Санкт-Петербург, Кронверкский пр., д.49, лит. А Тел.: +7-953-165-58-92 E-mail: rauvarov@itmo.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0002-2792-0136	
Alena I. Ermochenko , Engineer, Faculty of Ecotechnologies, ITMO University Kronverksky pr., 49, lit. A, St. Petersburg, 197101, Russia Tel.: +7-911-975-79-58 E-mail: ale-ermak97@mail.ru ORCID: https://orcid.org/0009-0000-2572-6551 * corresponding author		Алена Игоревна Ермоченко — инженер, факультет экотехнологий, Национальный исследовательский университет ИТМО 197101, Санкт-Петербург, Кронверкский пр., д.49, лит. А Тел.: +7-911-975-79-58 E-mail: ale-ermak97@mail.ru ORCID: https://orcid.org/0009-0000-2572-6551 * автор для контактов	
Contribution		Критерии авторства	
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	
Conflict of interest		Конфликт интересов	
The authors declare no conflict of interest.		Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.	

DOI: <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2025-8-1-42-48>



Received 18.10.2024

Accepted in revised 27.02.2025

Accepted for publication 04.03.2025

© Goudé K. A., Kouamé K. H., Gbotognon O. J., Kouadio E. J. P., 2025

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

Original scientific article

Open access

PHENOLIC COMPOUNDS, ORGANIC ACIDS, METHYLXANTHINES AND SOLUBLE SUGARS PROFILES IN COCOA PLACENTA

Kouadio A. Goudé¹, Koffi H. Kouamé², Oscar J. Gbotognon¹, Eugène J. P. Kouadio^{1,*}

¹Department of Food Science and Technology, Laboratoire de Biocatalyse et des Bioprocédés, Université Nangui Abrogoua, Abidjan, Côte d'Ivoire

²Departement des Sciences et Techniques, Université Alassane Ouattara, Bouaké, Côte d'Ivoire

KEY WORDS:

cocoa by-product,
fermentation,
bioactive compounds,
theobromine, caffeine,
food ingredient

ABSTRACT

Obtaining market cocoa beans generated by-products considered as waste discarded in the plantations. Among these, there is the placenta on which the beans are attached. This study aimed to identify and quantify by HPLC some metabolites (phenolic compounds, organic acids, methylxanthines and soluble sugars) in powders from unfermented and fermented cocoa placenta. Profile of phenolic compounds showed a number of 14 and 11, respectively for the unfermented and fermented extracts. These were essentially the major classes of phenolic compounds, namely, phenolic acids, flavonoids and tannins, with the addition of coumarin and hydroquinone. Catechin displayed the highest level of 0.6346 ± 0.0004 mg/kg in unfermented placenta whereas condensed tannins scored highest concentration of 0.0736 ± 0.0005 mg/kg in fermented placenta. Regarding organic acids, the HPLC-profile allowed the detection of fumaric, lactic, oxalic, citric, acetic and tartaric acids. Quantitatively, lactic and acetic acids were the major organic acids in both cocoa placenta with respective contents of 5.5179 ± 0.0001 and 1.2036 ± 0.0004 mg/kg in the unfermented placenta; 5.6519 ± 0.0004 and 1.3830 ± 0.0003 mg/kg in the fermented placenta. HPLC analysis of methylxanthines, showed the presence of theobromine and caffeine in unfermented and fermented placenta. Theobromine was the predominant methylxanthine with 0.0975 ± 0.0013 and 0.0464 ± 0.0004 mg/kg for unfermented and fermented placenta, respectively. Respect to soluble sugars, the HPLC analysis showed the presence of glucose, fructose and sucrose in both cocoa placenta. In fermented placenta, fructose exhibited the highest due to its low fermentability, well below that of glucose. The presence of these metabolites found in cocoa beans could suggest the use of cocoa placenta powders as ingredients in the development of new cocoa-based food derivatives.

ACKNOWLEDGEMENTS: The authors are grateful to the local populations of Center-West of Côte d'Ivoire and the technicians of Université Nangui Abrogoua, for samples collection and technical support in conducting of HPLC analysis, respectively.

Поступила 18.10.2024

Поступила после рецензирования 27.02.2025

Принята в печать 04.03.2025

© Гуде К. А., Куаме К. Х., Гботоньон О. Дж., Куадио Э. Ж. П., 2025

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

Научная статья

Open access

ПРОФИЛИ ФЕНОЛЬНЫХ СОЕДИНЕНИЙ, ОРГАНИЧЕСКИХ КИСЛОТ, МЕТИЛКСАНТИНОВ И РАСТВОРИМЫХ САХАРОВ В ПЛАЦЕНТЕ КАКАО

Гуде К. А.¹, Куаме К. Х.², Гботоньон О. Дж.¹, Куадио Э. Ж. П.^{1,*}

¹Факультет пищевых наук и технологий, Лаборатория биокатализа и биопроцессов, Университет Нанги Аброуга, Абиджан, Кот-д'Ивуар

²Факультет науки и техники, Университет Аласана Уаттары, Буаке, Кот-д'Ивуар

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: АННОТАЦИЯ

плацента какао,
ферментация,
фенольные
соединения,
органическая кислота,
метилксантин,
растворимый сахар

Рассматривается вопрос получения рыночных какао-бобов из побочных продуктов, считающихся отходами, которые подлежат утилизации на плантациях. В число таких отходов включена растительная плацента, к которой крепятся бобы какао. Целью данного исследования было выявление и количественное определение с помощью ВЭЖХ анализа некоторых метаболитов (фенольных соединений, органических кислот, метилксантинов и растворимых сахаров) в порошках из неферментированной и ферментированной плаценты какао. Профиль фенольных соединений показал их наличие в количестве 14 и 11 в неферментированной и ферментированной плаценте, соответственно. Представлены основные классы фенольных соединений, а именно, фенольные кислоты, флавоноиды и танины, с добавлением кумарина и гидрохинона. Катехин показал самый высокий уровень содержания — $0,6346 \pm 0,0004$ мг/кг — в неферментированной плаценте, тогда как в ферментированной плаценте самую высокую концентрацию показали конденсированные танины — $0,0736 \pm 0,0005$ мг/кг. Что касается органических кислот, анализ профиля посредством ВЭЖХ позволил обнаружить фумаровую, молочную, щавелевую, лимонную, уксусную и винную кислоты. Количественно молочная и уксусная кислоты были основными органическими кислотами в обоих образцах плаценты какао с соответствующим содержанием $5,5179 \pm 0,0001$ и $1,2036 \pm 0,0004$ мг/кг в неферментированной плаценте; и $5,6519 \pm 0,0004$ и $1,3830 \pm 0,0003$ мг/кг в ферментированной плаценте. Анализ содержания метилксантинов посредством ВЭЖХ показал наличие теобромину и кофеина в неферментированной и ферментированной плаценте. Теобромин был преобладающим метилксантином с долей содержания $0,0975 \pm 0,0013$ в неферментированной, и $0,0464 \pm 0,0004$ мг/кг в ферментированной плаценте, соответственно. Что касается растворимых сахаров, ВЭЖХ анализ показал наличие глюкозы, фруктозы и сахарозы в обеих плацентах какао. В ферментированной плаценте фруктоза показала наивысшую концентрацию по причине своей слабой ферментируемости, значительно более низкой, нежели чем у глюкозы. Наличие этих метаболитов, обнаруженных в какао-бобах, дает основания предполагать использование порошка из плаценты какао в качестве ингредиентов при разработке новых производных продуктов питания на основе какао.

FOR CITATION: Goudé, K. A., Kouamé, K. H., Gbotognon, O. J., Kouadio, E. J. P. (2025). Phenolic compounds, organic acids, methylxanthines and soluble sugars profiles in cocoa placenta. *Food Systems*, 8(1), 42–48. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2025-8-1-42-48>

ДЛЯ ЦИТИРОВАНИЯ: Гуде, К. А., Куаме, К. Х., Гботоньон, О. Дж., Куадио, Э. Ж. П. (2025). Профили фенольных соединений, органических кислот, метилксантинов и растворимых сахаров в плаценте какао. *Пищевые системы*, 8(1), 42–48. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2025-8-1-42-48>

БЛАГОДАРНОСТИ: Авторы выражают благодарность местному населению Центрально-Западного региона Кот-д'Ивуара, и техническим специалистам Университета Нангуи Аброуга за сбор образцов и оказание технической поддержки при проведении анализа методом высокоэффективной жидкостной хроматографии соответственно.

1. Introduction

The cocoa tree (*Theobroma cacao* L.) is the only plant whose commercial use of its beans from fruits, called, pods allows the production of chocolate [1]. It belongs to the Malvaceae family and is native to South and Central America [2] where it was cultivated by the Mayans and the Aztecs who called it “the food of God” [1]. Currently, cocoa is of inestimable economic importance in some developing countries because of its high contribution to the Gross Domestic Product (GDP) [3]. Côte d'Ivoire, Ghana and Indonesia are, respectively, the first, second and third producer. These three countries supply approximately 67% of the production of market cocoa beans [2]. Obtaining market cocoa beans generates enormous quantities of by-products considered as wastes, generally utilized in plantations, thus contributing to environmental pollution [4]. This waste is made up of three fractions, namely the pod husk, the placenta and the mucilage juice. Manufacturing of market cocoa beans into chocolate and derived products generates wastes called bean shells which constitute 12–20% of the cocoa seed [5]. Today, it well known that the valorisation of agricultural by-products wastes has become essential due to their significant volume generated by industrial processing and their richness in beneficial natural components [6,7]. Mendoza-Meneses et al. [8] indicated that the cocoa industrial wastes represent a source of usable biomass for the development of new products such as food, livestock feed, cosmetics, and chemical products, and they can even be used for the generation of biofuels. Thus, cocoa by-products were widely. Regarding to pod husk and bean shell, several reports showed that these cocoa by-products represent valuable bioactive compounds such as pectin, dietary fibers and phenolic compounds [5,9,10]. As for mucilage juice, studies conducted by Anvoh et al. [11] allowed its transformation into marmalade comparable to commercial products such as apricot marmalade. With respect to cocoa placenta which represents $2.58 \pm 0.22\%$ of the total fruit weight [12], investigations carried out on samples obtained from Côte d'Ivoire indicated that it could be good sources of macronutrients, minerals and antioxidant components [13]. In Côte d'Ivoire, the placenta is the waste resulting from extracting the market beans, which placenta is discarded on cocoa tree plantations. This waste can be obtained after the removal of the beans which subsequently undergo the fermentation stage. But also, the placenta can be fermented concomitantly with the beans which will subsequently be removed. Furthermore, it is well established that soluble fermentable sugars, phenolic compounds, alkaloids, notably methylxanthines and organic acids, are strongly involved in obtaining tastes; aroma flavours, antioxidant and neurostimulator properties of products derived from cocoa beans, such as chocolate and cocoa powder [14–16].

This study aims to identify and quantify by chromatographic analysis using high-performance liquid chromatography coupled with a UV-visible Diode Array Detector or Refractive Index Detector (RID), the different phenolic compounds, organic acids, methylxanthines (theobromine, caffeine and theophylline) and soluble sugars (glucose, fructose and sucrose) contained in powders of this by-product in the fermented or unfermented condition. This can guide the food industry towards a possible using of these powders in the development of new cocoa-based products.

2. Materials and methods

2.1. Materials

Cocoa material. The cocoa material subject to this study was the placenta from ripe pods harvested from the Forastero variety in a plantation in the Gôh region, in the center-west of Côte d'Ivoire.

Chemicals. Standards of organic acids were provided by Sigma-Aldrich (Steinheim, Germany). On the other hand, the standards of phenolic compounds and the acetonitrile HPLC grade, standards of caffeine (99% purity), theobromine (98% purity) and theophylline (99% purity) were obtained from Merck (Darmstadt, Germany). Analytical grade powder of D-(–)-Fructose ($\geq 99\%$), D-(+)-Glucose ($\geq 99.5\%$) and sucrose ($\geq 99.5\%$) standards were purchased from Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, USA).

2.2. Methods

2.2.1. Cocoa placenta powder preparation

The cocoa placenta powders were obtained according to the method previously described by Goudé et al. [13]. The first batch containing all the placentas fermented concomitantly with the beans for 3 days, according to traditional fermentation methods, underwent separation with the beans. For fermentation, approximately 50 kg of placenta with their

beans from the previously broken cocoa pods were poured onto plantain leaves laid on the ground. Then, the pile was covered with banana leaves and fermentation lasted three days. This placenta batch was dried in oven UFB400 (Mettler, Germany) at temperature 45°C for 3 to 5 days. Subsequently, the dried placenta batch was ground and sieved (sieve of mesh $250\ \mu\text{m}$) to obtain the fermented cocoa placenta powder. The second batch containing all the unfermented placentas underwent the same treatments to obtain the unfermented placenta powder.

2.2.2. Phenolic compounds extract preparation

A volume of 50 mL of 80% (V/V) methanol was added to 10 g of each of the two previously prepared placenta powders. Then by stirring, the phenolic compounds were extracted at 35°C for 24 hours, and then filtered through Whatman N°4 paper. This operation was repeated twice on the residue obtained. The three methanolic extracts thus obtained were combined to undergo evaporation at 35°C using a rotary evaporator (HEILDOLPH Laborata 4003 Control rotary evaporator, Schwabach, Germany) down to 25 mL. These 25 mL of each of the unfermented and fermented placenta extracts were diluted in 50 mL of distilled water and stored at -18°C for the HPLC analysis.

2.2.3. Organic acid extract preparation

The organic acids of cocoa placenta powders were obtained according to Hasib et al. [17]. Briefly, 2 g of cocoa placenta powder was introduced into a centrifuge tube containing 20 mL of distilled water. This mixture was centrifuged (Biocen 22 R, Ortoalresa, Spain) at 4000 rpm for 30 min. The supernatant obtained was filtered through Whatman N° 4 paper and then through a $0.45\ \mu\text{m}$ Millipore filter (Millipore; Sartorius AG, Goettingen, Germany) and stored at -18°C for further use in the HPLC analysis.

2.2.4. Methylxanthine extract preparation

A mass of 2 g of placenta powder was mixed with 10 mL of 10% (V/V) methanol. This mixture was sonicated in an ultrasonic bath ULTR-2L0-001 (Labbox, France) during 30 min according to Júnior et al. [18]. Subsequently, the blend was centrifuged (Biocen 22 R, Ortoalresa, Spain) for 10 min at 3000 rpm, filtered through an Agilent $0.2\ \mu\text{m}$ syringe filter, and the supernatant transferred to a vial and maintained at a temperature of -18°C .

2.2.5. Soluble sugar extracts preparation

Soluble sugars from cocoa placenta powders (fermented or unfermented) were extracted using the method of Rolland [19]. Briefly, a lump of 20 mg of cocoa placenta powder was added to 200 μL of 80% (V/V) ethanol in a test tube. The mixture was vigorously shaken for 10 min, followed by centrifugation (Biocen 22 R, Ortoalresa, Spain) at 13,000 rpm at room temperature during 3 min. The supernatant obtained which contains glucose, fructose and sucrose was kept. This operation was repeated 3 times. The extracts were then evaporated in an evaporator (rotary evaporator HEILDOLPH Laborata 4003 Control, Schwabach, Germany) and diluted in 600 μL of ultra-pure water.

2.3. HPLC procedures

2.3.1. Phenolic compound analysis

The 50 mL of phenolic extracts prepared — were added in 100 mL of distilled water and 20 μL of each extract was injected in an HPLC unit (HPLC (Shimadzu Corporation, Japan) endowed with a binary pump (LC-6A) coupled to a UV-VIS detector (SPD-6A). Phenolic separation was performed on an Agilent Zorbax SB-C18 column ($5\ \mu\text{m}$ particle size, $4.6 \times 150\ \text{m}$, CA, USA) at 38°C . The mobile phase was formic acid/distilled water (95/5; v/v) (eluent A) and acetonitrile/distilled water (98/2; v/v). The operation carried out with a flow rate of 1 mL/min lasted 25 min. Standard solution injection under the same conditions allowed to identify the different phenolic compounds by comparing retention times and UV-visible spectra. Peak areas of each phenolic and external calibration with standards were used for quantification.

2.3.2. Organic acid analysis

Organic acid analysis consisted of injecting 20 μL of organic acid extract from placenta powder into an analytical HPLC unit (Shimadzu Corporation, Japan) connected to a heating column device maintained at 35°C via an oven (Meta Therm TM, Interchrom, France). The separation column used was an ICsep ICE ORH-801 ion exclusion column ($40\ \text{cm} \times 5\ \mu\text{m}$, Interchrom, France). The system also included a pump (Shimadzu LC-6A Liquid Chromatograph) to circulate the mobile phase, a UV detector (Shimadzu SPD-6A UV Spectrophotometric Detector) and an

integrator (Shimadzu Chromatopac CR6A). Organic acids were detected at 210 nm and identified by comparing the retention times and spectral data obtained from standards under the same conditions. Quantification to obtain the different organic acid contents was carried out by comparing the peak areas with those of the external standards.

The main methylxanthines (theobromine, caffeine and theophylline) found in cocoa beans were explored chromatographically in placenta powders using an analytical HPLC unit (Shimadzu Corporation, Japan). The device also included a binary pump (LC-6A) associated with a UV-Vis detector (SPD-6A). Each of these methylxanthines was isolated using a reversed phase Hypersil™ ODS C18 Column with 10µm as particle size (Oslo, Norway). Analysis were carried out with isocratic elution at room temperature, injecting 10 µL of solution of cocoa placenta powder, using methanol – water – acetic acid (80:19:1) (v/v) as the mobile phase at a flow rate of 0.7 ml/min. UV-vis spectrophotometric detection was done at 273 nm. Theobromine solutions of concentrations 0.05; 0.100 and 0.250 mg/mL, caffeine and theophylline of concentrations 0.016, 0.040 and 0.250 mg/mL were prepared and injected under the same chromatographic conditions. Retention times and spectral data of standards collected under identical conditions were used for the identification of methylxanthines in cocoa placenta powders. Concentration of each compound was obtained through its peak area projected to the mean of its external standard.

2.3.3. Soluble sugar analysis

The analyses of soluble sugars (glucose, fructose and sucrose) of the cocoa placenta powders were carried out according to methods described by Jayawardhane et al. [20] and Md Saad et al. [21] with few modifications. The liquid chromatography performed involved the same device used for methylxanthines, but this time connected to refractive index detector (RID). Glucose, fructose and sucrose were separated with a reversed phase column ZORBAX (Agilent) NH₂ column, 5µm (4.5×250mm) in isocratic mode at temperature of 33 °C. The mobile phase used was a mixture of acetonitrile and water (75:25) at flow rate of 1 mL/min. A standard solution of each soluble sugar was previously prepared by dissolving 10 mg (glucose, fructose and sucrose) in the acetonitrile/water mixture (2/1), and then filtered through 0.45µm nylon filters. Concentrations of 0.3:1.5 and 5.00 mg/mL of each standard were prepared by diluting each stock solution. The separation of the different soluble sugars was obtained by

injecting 10 µL of the standards and samples of cocoa placenta powder were injected into an NH₂ column according to the following procedure. First, the different standard solutions at 5 mg/mL were injected separately to estimate their retention time. Then, the mixture at the same concentration and equal volume was injected for comparative analysis. Finally, each of the cocoa placenta powder samples was injected to detect and identify soluble sugars by comparison of retention times. The quantification of the concentration of each sugar expressed in concentration (mg/kg) was achieved by relating the area of the peak to that of its standard at a given concentration. Subsequently, the concentration of glucose, fructose and sucrose in the placenta powder was obtained by calculating the average of the values found previously.

2.4. Statistical analysis

All data were derived from the average of three analyses. Values obtained were as means ± standard deviation (SD). Analysis of variance (ANOVA) and Tukey's test were used to test for differences between means by Statistica 7.1 software. Significant differences were considered at the 5% level ($p \leq 0.05$).

3. Results and discussion

3.1. Phenolic compounds in cocoa placenta powders

HPLC analysis allowed to separate and identify, on the one hand, 14 phenolic compounds in the unfermented placenta powder and, on the other hand, 11 in the fermented one (Figure 1). These phenolic compounds detected in unfermented placenta powder belonged to several classes, namely tannins (tannins ol, i. e. condensed tannins; tannins H₂O, i. e. hydrolysable tannins), phenolic acids (gallic acid, cinnamic acid, caffeic, ferulic acid, veratric acid), flavonoids (catechin, flavone, pyrocatechol quercetine, rutin), coumarin and hydroquinone. On the other hand, the fermentation process caused the disappearance of ferulic acid, veratric acid and rutin in fermented placenta powder. It is well established that cocoa beans and derived products such as chocolate have always been good sources of phenolic compounds, particularly phenolic acids, flavonoids and proanthocyanidines which are in fact condensed tannins also called catechic tannins [14,22–24]. The same was true for some by-products such as pod husk [25,26] and cocoa beans shells [5,27,28]. The disappearance of some phenolic compounds noted during fermentation in this study seems to be a common occurrence in cocoa. Indeed, previous reports have indicated similar results during fermentation of cocoa beans [23,29,30]. In terms of contents, Table 1 showed that catechin displayed the highest value of 0.6346 ± 0.0004 g/100 g in extract of unfermented cocoa placenta powder, followed by hydroquinone (0.1339 ± 0.0003 g/100 g) and condensed tannins (0.1039 ± 0.0004 mg/kg). On the other hand, in the fermented powder extract, it was the condensed tannins that scored the highest concentration (0.0736 ± 0.0005 mg/kg), followed by pyrocatechol (0.0564 ± 0.0005 mg/kg) and hydrolysable tannins (0.0328 ± 0.0003 mg/kg). Upon examination of these contents of the

Table 1. Individual phenolic compounds contents (mg/kg) in unfermented and fermented cocoa placenta powders

Таблица 1. Содержание отдельных фенольных соединений (мг/кг) в неферментированных и ферментированных порошках плаценты какао

Phenolic compound	Peak	RT (min)	Cocoa placenta powder, mg/kg	
			Unfermented	Fermented
Tannin-H ₂ O	1	1.566	0.0354 ± 0.0005^a	0.0328 ± 0.0003^b
Tannin-ol	2	1.779	0.1039 ± 0.0004^a	0.0736 ± 0.0005^b
Gallic acid	3	1.820	0.0147 ± 0.0004^a	0.0136 ± 0.0004^a
Cinnamic acid	4	2.284	0.0040 ± 0.0003^b	0.0029 ± 0.0004^b
Catechin	5	2.474	0.6346 ± 0.0004^a	0.1360 ± 0.0004^b
Hydroquinone	6	2.862	0.1339 ± 0.0003^a	0.0025 ± 0.0004^b
Caffeic acid	7	3.247	0.0640 ± 0.0003^a	0.0069 ± 0.0003^b
Pyrocatechol	8	3.869	0.0185 ± 0.0003^a	0.0564 ± 0.0005^b
Coumarin	9	4.409	0.0050 ± 0.0001^a	0.0170 ± 0.0005^b
Quercetine	10	5.012	0.0021 ± 0.0001^a	0.0021 ± 0.0001^a
Flavone	11	6.073	0.0048 ± 0.0002^a	0.0553 ± 0.0005^b
Rutin	12	7.488	0.0031 ± 0.0002^a	nd
Ferulic acid	13	8.624	0.0816 ± 0.0004^a	nd
Veratric acid	14	9.602	0.0019 ± 0.0003^a	nd

RT: Retention Time, nd: non-detect.

Each value is from an average of three trials. Values are the mean ± standard deviation. In each row, mean values not bearing the same letter are significantly different at $p \leq 0.05$ according to Tukey's test).

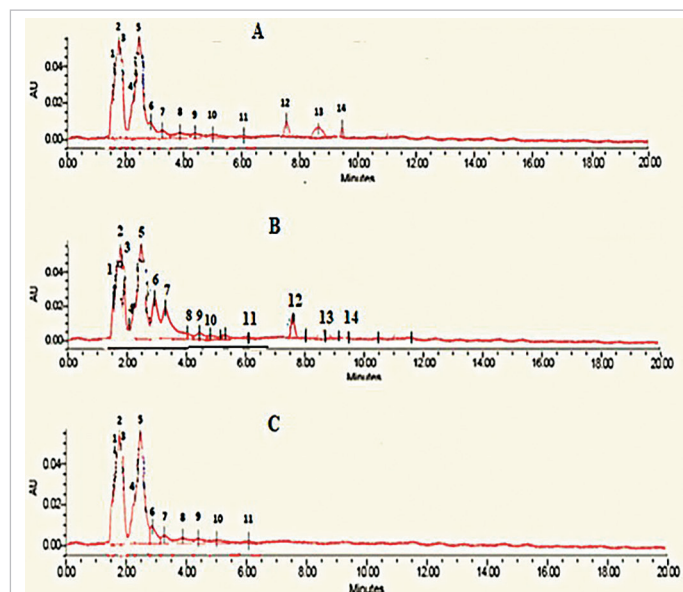


Figure 1. Phenolic compounds HPLC-profiles of of methanolic extracts from cocoa placenta powders; A: standards of phenolic compound, B: unfermented placenta, C: fermented placenta; detection at 280 nm: (1) tannin-H₂O; (2) tannin-ol; (3) gallic acid; (4) cinnamic acid; (5) catechin; (6) flavone; (7) caffeic acid; (8) pyrocatechol; (9) coumarin; (10) quercetine; (11) hydroquinone; (12) ferulic acid; (13) veratric acid; (14) rutin

Рисунок 1. ВЭЖХ-профили фенольных соединений метанольных экстрактов из порошков плаценты какао; А: стандарты фенольных соединений, В: неферментированная плацента, С: ферментированная плацента; порог обнаружения — при 280 нм: (1) танин-Н₂О; (2) танин-ол; (3) галловая кислота; (4) коричная кислота; (5) катехин; (6) флаван; (7) кофейная кислота; (8) пирокатехин; (9) кумарин; (10) кверцетин (11) гидрохинон; (12) феруловая кислота; (13) вератровая кислота; (14) рутин

different phenolic compounds in the powder of unfermented and fermented placenta, the trend which emerged overall was that a decrease in them was observed during fermentation. According to some reports, this loss of phenolic compounds could be attributed to their leaching with the fermentation exudate and also to their oxidation by polyphenol oxidases as clearly shown by the brown colour of the fermented placenta [31,32]. Obviously, this could have a negative impact on the antioxidant capacity of the fermented cocoa placenta powder which will decrease considerably compared to that which is not fermented as reported by Fang et al. [33] and Melo et al. [34] for cocoa beans.

3.2. Organic acids in cocoa placenta powders

The unfermented and fermented cocoa placenta powder extracts exhibited an organic acid profile consisting of six identified organic acids which were fumaric acid, lactic acid, oxalic acid, citric acid, acetic acid and tartaric acid (Figure 2). In general, these organic acids have previously been detected in cocoa beans [35–37] and in some by-products [11,38]. High levels of acetic acid and lactic acid are reported to be responsible for the acid flavor of cocoa products from certain regions [36].

In terms of quantity, as shown in Table 2, lactic and acetic acids were the major organic acids in both cocoa placenta powders with respective contents of 5.5179 ± 0.0001 and 1.2036 ± 0.0004 mg/kg in the unfermented powder; 5.6519 ± 0.0004 and 1.3830 ± 0.0003 mg/kg in the fermented powder. These two acids originated from the fermentative activity of lac-

tic acid bacteria on the one hand and acetic acid bacteria on the other hand [39–41]. Organic acids such as citric and oxalic acids, generally present in fermented cocoa beans [42], were also present in both powders with respective significant levels of 0.4388 ± 0.0005 and 0.2756 ± 0.0004 mg/kg in the unfermented powder; 0.4641 ± 0.0004 and 0.2421 ± 0.0004 mg/kg in the fermented powder. Fumaric acid was detected in fermented powder with a relatively considerable content of 1.1055 ± 0.0004 mg/kg. Overall, contents of different organic acids in cocoa placenta were significantly higher in the fermented powder than in the unfermented one, with the exception of citric acid. In fact, organic acids are produced during the fermentation process by acetic acid bacteria, lactic acid bacteria and yeasts and this must require increasing the pH of the fermentation medium through the reduction of the citric acid content [43,44]. Some studies have even reported that raw unfermented cocoa bean did not contain lactic and acetic acids [45,46]. In the case of this present study, it would be very likely that the fermentation of the placenta began early inside the pod. Moreover, despite the appearance of organic acids such as lactic, acetic and oxalic acids throughout fermentation, the difference in various acids content between fermented and unfermented placenta, although statistically significant, was not sufficiently considerable. This could be attributed to the fact that these acids could be carried away into the fermentation exudate due to the low stiffness of the cocoa placenta. In fact, the fermentation exudate corresponded to the juice of the fermenting mucilage. The finding of Anvoh et al. [11] previously confirmed a presence of considerable quantity of organic acids in cocoa fermented juice.

3.3. Methylxanthines in cocoa placenta powders

Caffeine (1,3,7-trimethylxanthine, theobromine (3,7-dimethylxanthine) and theophylline (1,3-dimethylxanthine) are alkaloids of methylxanthines class naturally present in cocoa bean [47,48]. The latter have very close chemical structures and have been the subject of numerous researches. They are well known for their stimulant effects on the central nervous and cardiovascular systems [47,49]. The existence of theobromine and caffeine has been highlighted in some by-products such as cocoa bean shell [3,50] and cocoa mucilage [3]. In the present study, theobromine, caffeine and theophylline were successfully analyzed in fermented and unfermented cocoa placenta powders. The results presented on the chromatographic profile (Figure 3) showed that the unfermented cocoa placenta presented peaks of theobromine, caffeine and theophylline. On the other hand, for the placenta fermented in cocoa powder, although exhibiting peaks of theobromine and caffeine, theophylline is completely absent.

Regarding concentrations of these different methylxanthines presented in Table 3, unfermented cocoa placenta powder showed values of 0.0975 ± 0.0013 ; 0.0607 ± 0.0004 and 0.0193 ± 0.0002 mg/kg for theobromine, caffeine and theophylline, respectively. As for fermented cocoa placenta powder, respective concentrations of 0.0464 ± 0.0004 and 0.0295 ± 0.0004 mg/kg were recorded for theobromine and caffeine while theophylline was absent. These data from the analysis of methylxanthines showed overall that cocoa placenta contains significant levels of theobromine, caffeine and traces of theophylline like cocoa beans. In addition,

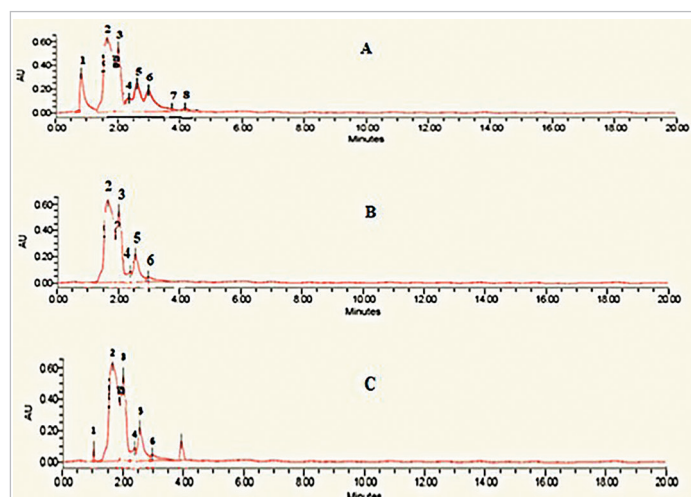


Figure 2. Organic acid HPLC-profiles of extracts from cocoa placenta powders; A: standards of organic acid, B: unfermented placenta, C: fermented placenta; detection was made at 210 nm: the numbers (1), (2), (3), (4), (5), (6), (7) and (8) designate respectively fumaric, lactic, oxalic, citric, acetic, tartaric, succinic and tannic acids

Рисунок 1. Профили ВЭЖХ органических кислот экстрактов из порошков плаценты какао; А: стандарты органических кислот, В: неферментированная плацента, С: ферментированная плацента; порог обнаружения — 210 нм: цифры (1), (2), (3), (4), (5), (6), (7) и (8) обозначают соответственно фумаровую, молочную, щавелевую, лимонную, уксусную, винную, янтарную и танниновую (дубильную) кислоты

Table 2. Individual organic acid contents (mg/kg) in unfermented and fermented cocoa placenta powders

Таблица 2. Содержание отдельных органических кислот в порошке неферментированной и ферментированной плаценты

Organic acid	Peak	RT (min)	Cocoa placenta powder, mg/kg	
			Unfermented	Fermented
Fumaric acid	1	1.401	nd	1.1055 ± 0.0004^a
Lactic acid	2	1.671	5.5179 ± 0.0001^a	5.6519 ± 0.0004^b
Oxalic acid	3	1.990	0.4388 ± 0.0005^a	0.4641 ± 0.0004^b
Citric acid	4	2.404	0.2756 ± 0.0004^a	0.2421 ± 0.0004^b
Acetic acid	5	2.611	1.2036 ± 0.0004^a	1.3830 ± 0.0003^b
Tartaric acid	6	3.102	0.0932 ± 0.0004^a	0.0996 ± 0.0005^b
Succinic acid	7	3,944	nd	Nd
Tannic acid	8	4,082	nd	Nd

RT: Retention Time, nd: non-detected.

Each value is from an average of three trials. Values are the mean $\pm$ standard deviation. In each row, mean values not bearing the same letter are significantly different at $p \leq 0.05$ according to Tukey's test.

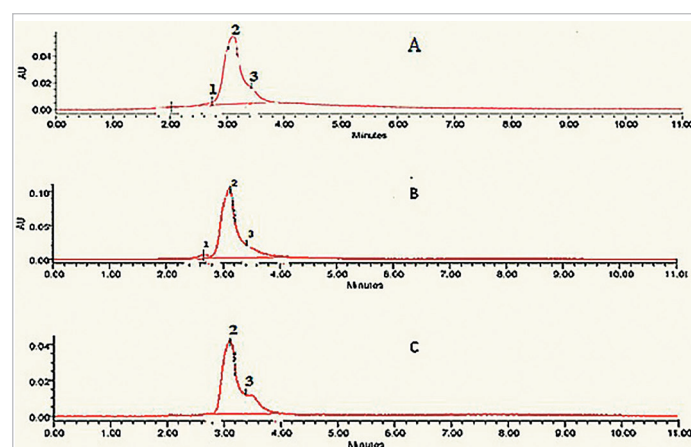


Figure 3. Methylxanthine HPLC-profiles of extracts from cocoa placenta powders; A: standards of methylxanthine, B: unfermented placenta, C: fermented placenta; detection at 273 nm: (1) theophylline; (2) theobromine; (3) caffeine

Рисунок 3. ВЭЖХ профили метилксантина экстрактов из порошков плаценты какао; А: стандарты метилксантина, В: неферментированная плацента, С: ферментированная плацента; порог обнаружения при 273 нм: (1) теофиллин; (2) теобромин; (3) кофеин

Table 3. Methylxanthine contents (mg/kg) in unfermented and fermented cocoa placenta powders

Таблица 3. Содержание метилксантина (мг/кг) в порошках неферментированной и ферментированной плаценты какао

Methylxanthine	Peak	RT (min)	Cocoa placenta powder, mg/kg	
			Unfermented	Fermented
Théophylline	1	2.659	0.0193 ± 0.0002	nd
Théobromine	2	3.116	0.0975 ± 0.0013 ^a	0.0464 ± 0.0004 ^b
Caffeine	3	3.413	0.0607 ± 0.0004 ^a	0.0295 ± 0.0004 ^b

RT: Retention Time, nd: non-detect.

Each value is from an average of three trials. Values are the mean ± standard deviation. In each row, mean values not bearing the same letter are significantly different at $p \leq 0.05$ according to Tukey's test.

fermentation induced a considerable drop in methylxanthine content as has been noted for cocoa beans in the literature [18,51–53]. This decrease in methylxanthine levels could be explained by the fact that during fermentation, the pulp, that is to say the mucilage attached to the bean and the placenta which contains theobromine and caffeine [51], is extracted with the aid from the increase in temperature and leached into the fermentation exudate as has been reported for the cocoa bean [54].

3.4. Soluble sugars in cocoa placenta powders

According to some authors, the profile of soluble sugars in cocoa raw products constitutes a quality index; these sugars are found to be one of the main precursors of flavor and taste for which the newly formed compounds from these sugars are responsible [55,56], all of which justifies the analysis of fructose, glucose and sucrose in this study. Figure 4 showed the chromatographic profiles of these soluble sugars in fermented and unfermented cocoa placenta powders. It was observed that these three soluble sugars were detected in both cocoa placenta powders. It is well

Table 4. Sucrose, glucose and sucrose contents (mg/kg) in sugar extracts from cocoa placenta powders

Таблица 4. Содержание сахарозы, глюкозы и сахарозы (мг/кг) в экстрактах сахара, извлеченных из порошков плаценты какао

Soluble sugars	Peak	RT (min)	Sugar extract from cocoa placenta powder, mg/kg	
			Unfermented batch	Fermented batch
Fructose	1	1.709	0.2558 ± 0.0002 ^a	0.2075 ± 0.0004 ^b
Glucose	2	2.870	0.1681 ± 0.0002 ^a	0.1299 ± 0.0004 ^b
Sucrose	3	3.801	0.0145 ± 0.0003 ^a	0.0076 ± 0.0006 ^b

RT: Retention Time.

Each value is from an average of three trials. Values are the mean ± standard deviation. In each row, mean values not bearing the same letter are significantly different at $p \leq 0.05$ according to Tukey's test.

known that sucrose, glucose and fructose are the predominant sugars in fresh cocoa beans [57,58]. These soluble sugars were also detected in some cocoa by-products such as mucilage [59].

In terms of quantification, Table 4 shows concentration of each soluble analyzed sugar. Fructose exhibited the higher concentration in unfermented placenta powder estimated to 0.2558 ± 0.0002 mg/kg, followed by glucose with a value of 0.1681 ± 0.0002 mg/kg. As for sucrose, its concentration in unfermented placenta powder was the lowest with an estimated value of 0.0145 ± 0.0003 mg/kg. The presence of these three soluble sugars has already been reported in unfermented cocoa beans [60,61]. Sucrose, glucose and fructose are mainly found in the pulp which covers the beans and the placenta, and during fermentation these sugars are metabolized by yeasts [57]. Furthermore, previous reports have indicated that sucrose is the predominant soluble sugar in fresh pulp before the fermentation [61,62].

On the other hand, in the present study, sucrose had the lowest concentration in the unfermented cocoa placenta. This might be attributed to premature fermentation in the placenta. Regarding fermented cocoa placenta powder, it was overall observed that the concentrations of the different sugars decreased to reach values of 0.2075 ± 0.0004; 0.1299 ± 0.0004 and 0.0076 ± 0.0006 mg/kg at the end of fermentation for fructose, glucose and sucrose respectively. This observation is in agreement with several others during the fermentation of cocoa beans [57,61]. As reported earlier in this study, this could be justified by the fact that these sugars are fermented by microorganisms to produce various metabolites such as ethanol, organic acids and others [63]. In addition, during fermentation, sucrose was almost hydrolyzed to glucose and fructose by endogenous invertase [55,64]. Furthermore, the concentration of fructose is the highest in fermented cocoa placenta powder; this could be ascribed to the preferential metabolism of glucose during fermentation [65].

4. Conclusion

The results reported in this study clearly indicated that in terms of phenolic compounds, organic acids, methylxanthines and soluble sugars, the compositions of the fermented cocoa placenta powder were approximately similar to cocoa powder from the fermented beans. This could be a good quality indicator that could allow this by-product of obtaining market cocoa beans to be considered as an ingredient for the development of cocoa-based food derivatives instead of fermented cocoa beans powder. This would constitute an added value in the valorization of the by-products of cocoa processing, as the placenta is generally discarded in the cocoa plantations.

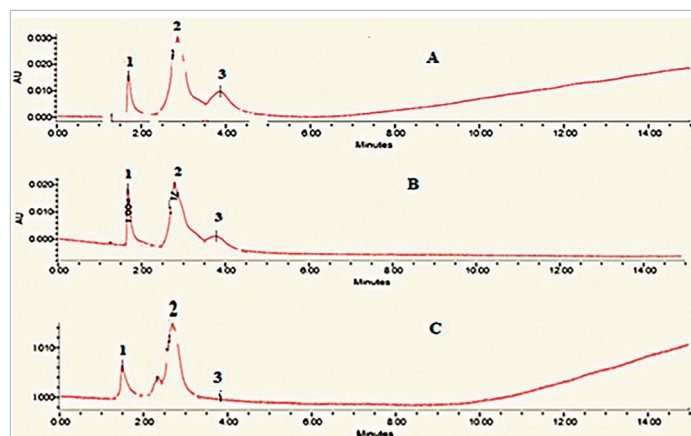


Figure 4. Soluble sugars HPLC-profiles of extracts from cocoa placenta powders; A: standards of soluble sugars, B: unfermented placenta, C: fermented placenta; detection with Refractive Index Detector (RID): (1) Fructose; (2) Glucose (3) Sucrose

Рисунок 4. Растворимые сахара. ВЭЖХ профили экстрактов из порошков плаценты какао; А: стандарты растворимых сахаров, В: неферментированная плацента, С: ферментированная плацента; обнаружение с помощью рефрактометрического детектора (RID): (1) фруктоза; (2) глюкоза (3) сахароза

REFERENCES

- Soares, T. E., Oliveira, M. B. P. P. (2022). Cocoa by-products: Characterization of bioactive compounds and beneficial health effects. *Molecules*, 27(5), Article 1625. <https://doi.org/10.3390/molecules27051625>
- Campos-Vega, R., Nieto-Figueroa, K. H., Oomah, B. D. (2018). Cocoa (*Theobroma cacao* L.) pod husk: Renewable source of bioactive compounds. *Trends in Food Science and Technology*, 81, 172–184. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2018.09.022>
- Llerena, W., Samaniego, I., Vallejo, C., Arreaga, A., Zhunio, B., Coronel, Z. et al. (2023). Profile of bioactive components of cocoa (*Theobroma cacao* L.) by-products from Ecuador and evaluation of their antioxidant activity. *Food*, 12(13), Article 2583. <https://doi.org/10.3390/foods12132583>
- Chan, S.-Y., Choo, W.-S. (2013). Effect of extraction conditions on the yield and chemical properties of pectin from cocoa husks. *Food Chemistry*, 141(4), 3752–3758. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.06.097>
- Botella-Martínez, C., Lucas-Gonzalez, R., Ballester-Costa, C., Pérez-Álvarez, J. Á., Fernández-López, J., Delgado-Ospina, J. et al. (2021). Ghanaian cocoa (*Theobroma cacao* L.) bean shells coproducts: Effect of particle size on chemical composition, bioactive compound content and antioxidant activity. *Agronomy*, 11(2), Article 401. <https://doi.org/10.3390/agronomy11020401>
- Araújo, R. G., Rodríguez-Jasso, R. M., Ruiz, H. A., Pintado, M. M. E., Aguilar, C. N. (2018). Avocado by-products: Nutritional and functional properties. *Trends in Food Science and Technology*, 80, 51–60. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2018.07.027>
- Gómez-García, R., Campos, D. A., Aguilier, C. N., Madureira, A. R., Pintado, M. (2021). Valorisation of food agro-industrial by-products: From the past to the present and perspectives. *Journal of Environmental Management*, 299, Article 113571. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2021.113571>
- Mendoza-Meneses, C. J., Feregrino-Pérez, A. A., Gutiérrez-Antonio, C. (2021). Potential use of industrial cocoa waste in biofuel production. *Journal of Chemistry*, 2021, Article 3388067. <https://doi.org/10.1155/2021/3388067>
- Yapo, B. M., Besson, V., Koubala, B. B., Koffi, K. L. (2013). Adding value to cacao pod husks as a potential antioxidant-dietary fiber source. *American Journal of Food and Nutrition*, 1 (3), 38–46. <https://doi.org/10.12691/ajfn-1-3-4>
- Indiarto, R., Raihani, Z. R., Dewi, M. P., Aquila, Z. R., Efendi, M. Y. (2021). A review of innovation in the by-products of cocoa bean processing. *International Journal of Emerging Trends in Engineering Research*, 9(8), 1162–1169. <https://doi.org/10.30534/ijeter/2021/22982021>

11. Anvoh, K. Y. B., Bi, A. Z., Gnagri, D. (2009). Production and characterization of juice from mucilage of cocoa beans and its transformation into marmalade. *Pakistan Journal of Nutrition*, 8 (2), 129–133. <https://doi.org/10.3923/pjn.2009.129.133>
12. Vergara-Mendoza, M., Martínez, G. R., Blanco-Tirado, C., Combariza, M. Y. (2022). Mass balance and compositional analysis of biomass outputs from cacao fruits. *Molecules*, 27(12), Article 3717. <https://doi.org/10.3390/molecules27123717>
13. Goude, K. A., Adingra, K. M. D., Gbotognon, O. J., Kouadio, E. J. P. (2019). Biochemical characterization, nutritional and antioxidant potentials of cocoa placenta (*Theobroma cacao* L.). *Annals. Food Science and Technology*, 20(3), 603–613.
14. Wollgast, J., Anklam, E. (2000). Review on polyphenols in *Theobroma cacao*: Changes in composition during the manufacture of chocolate and methodology for identification and quantification. *Food Research International*, 33(6), 423–447. [https://doi.org/10.1016/S0963-9969\(00\)00068-5](https://doi.org/10.1016/S0963-9969(00)00068-5)
15. Martínez-Pinilla, E., Onatibia-Astibia, A., Franco, R. (2015). The relevance of theobromine for the beneficial effects of cocoa consumption. *Frontiers in Pharmacology*, 6, Article 30. <https://doi.org/10.3389/fphar.2015.00030>
16. Edo, G. I., Samuel, P. O., Oloni, G. O., Ezekiel, G. O., Onoharigho, F. O., Ogheneguke, O. et al. (2023). Review on the biological and bioactive components of cocoa (*Theobroma cacao*). Insight on food, health and nutrition. *Natural Resources for Human Health*, 3(4), 426–448. <https://doi.org/10.53365/nrfhh/174302>
17. Hasib, A., Jaouad, A., Mahrouz, M., Khouili, M. (2002). HPLC determination of organic acids in Moroccan apricot. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, 3(4), 207–211. <https://doi.org/10.1080/11558120209487729>
18. Júnior, P. C. G., dos Santos, V. B., Lopes, A. S., de Souza, J. P. T., Pina, J. R. S., Júnior, G. C. A. et al. (2020). Determination of theobromine and caffeine in fermented and unfermented Amazonian cocoa (*Theobroma cacao* L.) beans using square wave voltammetry after chromatographic separation. *Food Control*, 108, Article 106887. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2019.106887>
19. Rolland, G. (2020). Choix d'une méthode d'extraction et de purification pour le dosage des sucres solubles et de l'amidon dans les tissus ligneux de la vigne. *Cahier des Techniques de l'INRA*, 100, 39–44. (In French)
20. Jayawardhane, S. A. D. P. S., Edirisinghe, E. N. U., Fernando, M. S. C., Tharangika, H. B. (2021). Development and Validation of a HPLC based analytical method, towards the determination of sugar concentration in processed black tea. *Technium BioChemMed*, 2(1), 1–11.
21. Md Saad, W. M., Salin, N. S. M., Ramzi, A. S., Salim, F. (2020). Identification and quantification of fructose, glucose and sucrose in watermelon peel juice. *Malaysian Journal of Analytical Sciences*, 24(3), 382–389.
22. Ali, F., Ranneh, Y., Ismail, A., Esa, N. M. (2015). Identification of phenolic compounds in polyphenols-rich extract of Malaysian cocoa powder using the HPLC-UV-ESI – MS/MS and probing their antioxidant properties. *Journal of Food Science and Technology*, 52(4), 2103–2111. <https://doi.org/10.1007/s13197-013-1187-4>
23. Urbańska, B., Derewiaka, D., Lenart, A., Kowalska, J. (2019). Changes in the composition and content of polyphenols in chocolate resulting from pre-treatment method of cocoa beans and technological process. *European Food Research and Technology*, 245, 2101–2112. <https://doi.org/10.1007/s00217-019-03333-w>
24. Acosta-Otálvaro, E., Valencia-Gallego, W., Mazo-Rivas, J. C., García-Viguera, C. (2022). Cocoa extract with high content of flavan 3-ols, procyanidins and methylxanthines. *Journal of Food Science and Technology*, 59(3), 1152–1161. <https://doi.org/10.1007/s13197-021-05119-z>
25. Cádiz-Gurrea, M. de la L., Fernández-Ochoa, Á., Leyva-Jiménez, F. J., Guerrero-Muñoz, N., Villegas-Aguilar, M. del C., Pimentel-Moral, S. et al. (2020). *Molecules*, 25(14), Article 3177. <https://doi.org/10.3390/molecules25143177>
26. Felice, F., Fabiano, A., De Leo, M., Piras, A. M., Beconcini, D., Cesare, M. M. et al. (2020). Antioxidant effect of cocoa by-product and cherry polyphenol extracts: A comparative study. *Antioxidants*, 9(2), Article 132. <https://doi.org/10.3390/antiox9020132>
27. Rojo-Poveda, O., Zeppa, G., Ferrocino, I., Stévigny, C., Barbosa-Pereira, L. (2021). Chemometric classification of cocoa bean shells based on their polyphenolic profile determined by RP-HPLC-PDA analysis and spectrophotometric assays. *Antioxidants*, 10(10), Article 1533. <https://doi.org/10.3390/antiox10101533>
28. Rebollo-Hernanz, M., Cañas, S., Taladril, D., Segovia, Á., Bartolomé, B., Aguilera, Y. et al. (2021). Extraction of phenolic compounds from cocoa shell: Modeling using response surface methodology and artificial neural networks. *Separation and Purification Technology*, 270, Article 118779. <https://doi.org/10.1016/j.seppur.2021.118779>
29. Albertini, B., Schoubben, A., Guarnaccia, D., Pinelli, F., Della Vecchia, M., Ricci, M. et al. (2015). Effect of fermentation and drying on cocoa polyphenols. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 63(45), 9948–9953. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.5b01062>
30. Cortez, D., Quispe-Sanchez, L., Mestanza, M., Oliva-Cruz, M., Yoplac, I., Torres, C. et al. (2023). Changes in bioactive compounds during fermentation of cocoa (*Theobroma cacao*) harvested in Amazonas-Peru. *Current Research in Food Science*, 6, Article 100494. <https://doi.org/10.1016/j.crfs.2023.100494>
31. Camu, N., De Winter, T., Addo, S. K., Takrama, J. S., Bernaert, H., De Vuyst, L. (2008). Fermentation of cocoa beans: Influence of microbial activities and polyphenol concentrations on the flavour of chocolate. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 88(13), 2288–2297. <https://doi.org/10.1002/jsfa.5349>
32. do Carmo Brito, B. de N., Campos Chisté, R., da Silva Pena, R., Abreu Gloria, M. B., Santos Lopes, A. (2017). Bioactive amines and phenolic compounds in cocoa beans are affected by fermentation. *Food Chemistry*, 228, 484–490. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.02.004>
33. Fang, Y., Li, R., Chu, Z., Zhu, K., Gu, F., Zhang, Y. (2020). Chemical and flavor profile changes of cocoa beans (*Theobroma cacao* L.) during primary fermentation. *Food Science and Nutrition*, 8, 4121–4133. <https://doi.org/10.1002/fsn3.1701>
34. Melo, T. S., Pires, T. C., Engelmann, J. V. P., Monteiro, A. L. O., Maciel, L. F., Bispo, E. da S. (2021). Evaluation of the content of bioactive compounds in cocoa beans during the fermentation process. *Journal of Food Science and Technology*, 58(5), 1947–1957. <https://doi.org/10.1007/s13197-020-04706-w>
35. Tomlins, K. I., Baker, D. M., McDowell, I. J. (1990). HPLC method for the analysis of organic acids, sugars, and alcohol in extracts of fermenting cocoa beans. *Chromatographia*, 29(11–12), 557–561. <https://doi.org/10.1007/bf02261222>
36. Holm, C. S., Aston, J. W., Douglas, K. (1993). The effects of the organic acids in cocoa on the flavour of chocolate. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 61, 67–71. <https://doi.org/10.1002/jsfa.2740610111>
37. Yang, D., Wu, B., Qin, X., Zhao, X., Zhu, Z., Yan, L. et al. (2024). Quality differences and profiling of volatile components between fermented and unfermented cocoa seeds (*Theobroma cacao* L.) of Criollo, Forastero and Trinitario in China. *Beverage Plant Research*, 4, Article e010. <https://doi.org/10.48130/bpr-0024-0002>
38. Ramos-Escudero, F., Rojas-García, A., Cádiz-Gurrea, M. de la L., Segura-Carrettero, A. (2024). High potential extracts from cocoa byproducts through sonotrode optimal extraction and a comprehensive characterization. *Ultrasonics Sonochemistry*, 106, Article 106887. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2024.106887>
39. Ho, V. T. T., Zhao, J., Fleet, G. (2015). The effect of lactic acid bacteria on cocoa bean fermentation. *International Journal of Food Microbiology*, 205, 54–67. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2015.03.031>
40. De Vuyst, L., Leroy, F. (2020). Functional role of yeasts, lactic acid bacteria and acetic acid bacteria in cocoa fermentation processes. *FEMS Microbiology Reviews*, 44(4), 432–453. <https://doi.org/10.1093/femsre/fuaa014>
41. Ordoñez-Araque, R. H., Landines-Vera, E. F., Urresto-Villegas, J. C., Caicedo-Jaramillo, C. F. (2020). Microorganisms during cocoa fermentation: Systematic review. *Food and Raw Materials*, 8(1), 155–162. <http://doi.org/10.21603/2308-4057-2020-1-155-162>
42. Jinap, S., Dimick, P. S. (1990). Acidic characteristic of fermented and dried cocoa beans from different countries of origin. *Journal of Food Science*, 55, 547–550. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1990.tb06806.x>
43. Schwan, R. F., de Melo Pereira, G. V., Fleet, G. H. (2014). Microbial activities during cocoa fermentation. Chapter in a book: *Cocoa and Coffee Fermentations*. CRC Press, 2014. <https://doi.org/10.1201/b17536-9>
44. Ouattara, D. H., Ouattara, H. G., Adom, J. N., Goualié, B. G., Koua, G. A., Doué, G. G. et al. (2016). Screening of lactic acid bacteria capable to breakdown citric acid during Ivorian cocoa fermentation and response of bacterial strains to fermentative conditions. *British Biotechnology Journal*, 10(3), 1–10. <https://doi.org/10.9734/bbj/2016/19279>
45. Peña González, M. A., Ortiz Urgiles, J. P., Santander Pérez, F. A., Lazo Vélez, M. A., Caroca Cáceres, R. S. (2023). Physicochemical changes during controlled laboratory fermentation of cocoa (CCN-51) with the inclusion of fruits and on-farm inoculation. *Brazilian Journal of Food Technology*, 26, Article e2023013. <https://doi.org/10.1590/1981-6723.01323>
46. Van de Voorde, D., Díaz-Muñoz, C., Hernandez, C. E., Weckx, S., De Vuyst, L. (2023). Yeast strains do have an impact on the production of cured cocoa beans, as assessed with Costa Rican Trinitario cocoa fermentation processes and chocolates thereof. *Frontiers in Microbiology*, 14, Article 1232523. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2023.1232523>
47. Bispo, M. S., Veloso, M. C. C., Pinheiro, H. L. C., De Oliveira, R. F. S., Reis, J. O. N., De Andrade, J. B. (2002). Simultaneous determination of caffeine, theobromine, and theophylline by high-performance liquid chromatography. *Journal of Chromatographic Science*, 40(1), 45–48. <https://doi.org/10.1093/chromsci/40.1.45>
48. Cabuga, I. M. G., Won K. R. A. (2016). Fast, reliable and simultaneous determination of theobromine and caffeine in fermented and unfermented cacao beans and in cocoa products using reverse phase HPLC. *International Journal of Agriculture Innovations and Research*, 4(5), 898–902.
49. Gonzales-Yépez, K. A., Vilela, J. L., Reátegui, O. (2023). Determination of caffeine, theobromine, and theophylline by HPLC-DAD in beverages commonly consumed in Lima, Peru. *International Journal of Food Science*, 2023, Article 4323645. <https://doi.org/10.1155/2023/4323645>
50. Pagliari, S., Celano R., Rastrelli L., Sacco E., Arlati F. Labra M. et al. (2022). Extraction of methylxanthines by pressurized hot water extraction from cocoa shell by-product as natural source of functional ingredient. *LWT*, 170, Article 114115. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2022.114115>
51. Brunetto, M. d. R., Gutiérrez, L., Delgado, Y., Gallignani, M., Zambrano, A., Gómez, Á. et al. (2007). Determination of theobromine, theophylline and caffeine in cocoa samples by a high-performance liquid chromatographic method with on-line sample cleanup in a switching-column system. *Food Chemistry*, 100(2), 459–467. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2005.10.007>
52. Peláez, P., Bardón, I., Camasca, P. (2016). Methylxanthine and catechin content of fresh and fermented cocoa beans, dried cocoa beans, and cocoa liquor. *Scientia Agropecuaria*, 7(4), 355–365. <https://doi.org/10.17268/sci.agropecu.2016.04.01>
53. Febrianto, N. A., Zhu, F. (2022). Composition of methylxanthines, polyphenols, key odorant volatiles and minerals in 22 cocoa beans obtained from different geographic origins. *LWT*, 153, Article 112395. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.112395>
54. Calvo, A. M., Botina, B. L., García, M. C., Cardona, W. A., Montenegro, A. C., Criollo, J. (2021). Dynamics of cocoa fermentation and its effect on quality. *Scientific Reports*, 11(1), Article 16746. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-95703-2>
55. Rohan, T. A., Stewart, T. (1967). The precursors of chocolate aroma: Production of reducing sugars during fermentation of cocoa beans. *Journal of Food Science*, 32(4), 399–402. <http://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1967.tb09694.x>
56. Gil, M., Llano, S., Jaramillo, Y., Quijano, J., Londono-Londono, J. (2020). Matrix effect on quantification of sugars and mannitol developed during the postharvest of cocoa: An alternative method for traceability of aroma precursors by liquid chromatography with an evaporative detector. *Journal of Food Science and Technology*, 57(1), 210–221. <https://doi.org/10.1007/s13197-019-04049-1>
57. Afoakwa, E. O., Kongor, J. E., Takrama, J. F., Budu, A. S. (2013). Changes in acidification, sugars and mineral composition of cocoa pulp during fermentation of pulp pre-conditioned cocoa (*Theobroma cacao*) beans. *International Food Research Journal*, 20(3), 1215–1222.
58. Ofosu-Ansah, E., Budu, A. S., Mensah-Brown, H., Takrama, J. F., Afoakwa, E. O. (2013). Changes in nib acidity, proteolysis and sugar concentration as influenced by pod storage and roasting conditions of fermented cocoa (*Theobroma cacao*) beans. *Journal of Food Science Engineering*, 3(12), 635–647. <http://doi.org/10.17265/2159-5828/2013.12.001>
59. Balladares, C., Garca, J., ChezGuaranda, I., Prez, S., Gonzalez, J., Sosa, D. et al. (2016). Physicochemical characterization of *Theobroma cacao* L. sweatings in

- Ecuadorian coast. *Emirates Journal of Food and Agriculture*, 28(10), 741–745. <https://doi.org/10.9755/ejfa.2016-02-187>
60. Kresnowati, M. T. A. P., Febriami, H. (2016). Mapping the effects of starter culture addition on cocoa bean fermentation. *ASEAN Engineering Journal Part B*, 5(1), 25–37.
61. Megías-Pérez, R., Grimbs, S., D'Souza, R. N., Bernaert, H., Kuhnert, N. (2018). Profiling, quantification and classification of cocoa beans based on chemometric analysis of carbohydrates using hydrophilic interaction liquid chromatography coupled to mass spectrometry. *Food Chemistry*, 258, 284–294. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.03.026>
62. Niemenak, N., Eyamo, J. V. E., Djabou, S. A. M., Tchouatcheu, A. G. M., Bernhardt, C., Lieberei, R. et al. (2020). Assessment of the profile of free amino acids and reducing sugars of cacao beans from local Cameroonian Trinitario (SNK varieties) and Forastero (TIKO varieties) using fermentation-like incubation. *Journal of Applied Botany and Food Quality*, 93, 321–329. <https://doi.org/10.5073/JABFQ.2020.093.039>
63. Agyirifo, D. S., Wamalwa, M., Otwé, E. P., Galyuon, I., Runo, S., Takrama, J. et al. (2019). Metagenomics analysis of cocoa bean fermentation microbiome identifying species diversity and putative functional capabilities. *Heliyon*, 5(7), Article e02170. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2019.e02170>
64. Puziah, H., Jinap, S., Sharifah, K. S. M., Asbi, A. (1998). Changes in free amino acid, peptide-N, sugar and pyrazine concentration during cocoa fermentation. *Journal of the Science of Food Agriculture*, 78, 535–542. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1097-0010\(199812\)78:4<535::AID-JSFA151>3.0.CO;2-6](https://doi.org/10.1002/(SICI)1097-0010(199812)78:4<535::AID-JSFA151>3.0.CO;2-6)
65. Redgwell, R.J., Trovato, V., Curt, D. (2003). Cocoa bean carbohydrates: Roasting-induced changes and polymer interactions. *Food Chemistry*, 80(4), 511–516. [https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(02\)00320-5](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(02)00320-5)

AUTHOR INFORMATION		СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ	
Affiliation		Принадлежность к организации	
Kouadio A. Goudé , PhD Student, Department of Food Science and Technology, Laboratoire de Biocatalyse et des Bioprocédés, Université Nangui Abrogoua 02 BP 801, Abidjan 02, Côte d'Ivoire Tel.: +22-5070-745-54-08 E-mail: alfredgoude@gmail.com ORCID: https://orcid.org/0009-0007-3287-7432		Гуде Куадио А. — аспирант, факультет пищевых наук и технологий, Лаборатория биокатализа и биопроцессов, Университет Нанги Аброуга Кот-д'Ивуар, Абиджан, 02 BP 801 Тел.: +22-5070-745-54-08 E-mail: alfredgoude@gmail.com ORCID: https://orcid.org/0009-0007-3287-7432	
Koffi H. Kouamé , PhD, Assistant Professor, Department of Sciences and Techniques, Université Alassane Ouattara BPv 18, Bouaké 01, Côte d'Ivoire Tel.: +22-5075-949-40-59 E-mail: honoreigname@gmail.com ORCID: https://orcid.org/0009-0008-7246-8987		Куаме Коффи Х. — PhD, Ассистент- Профессор, Факультет науки и техники, Университет Аlassана Уаттары Кот-д'Ивуар, Буаке 01, BPv 18 Тел.: +22-5075-949-40-59 E-mail: honoreigname@gmail.com ORCID: https://orcid.org/0009-0008-7246-8987	
Oscar J. Gbotognon , PhD, Waiting to be Recruited, Department of Food Science and Technology, Laboratoire de Biocatalyse et des Bioprocédés, Université Nangui Abrogoua 02 BP 801, Abidjan 02, Côte d'Ivoire Tel.: +22-5070-881-94-33 E-mail: gbotognonoscar@yahoo.fr ORCID: https://orcid.org/0009-0001-5654-3376		Гботоньон Оскар Дж. — PhD, ожидает приема на работу, факультет пищевых наук и технологий, Лаборатория биокатализа и биопроцессов, Университет Нанги Аброуга Кот-д'Ивуар, Абиджан, 02 BP 801 Тел.: +22-5070-881-94-33 E-mail: gbotognonoscar@yahoo.fr ORCID: https://orcid.org/0009-0001-5654-3376	
Eugène J. P. Kouadio , PhD, Professor, Department of Food Science and Technology, Laboratoire de Biocatalyse et des Bioprocédés, Université Nangui Abrogoua 02 BP 801, Abidjan 02, Côte d'Ivoire Tel.: +22-5070-797-20-51 E-mail: nkouadiop@yahoo.fr ORCID: https://orcid.org/0000-0003-0512-0135 * corresponding author		Куадио Эжен Ж. П. — PhD, Профессор, факультет пищевых наук и технологий, Лаборатория биокатализа и биопроцессов, Университет Нанги Аброуга Кот-д'Ивуар, Абиджан, 02 BP 801 Тел.: +22-5070-797-20-51 E-mail: nkouadiop@yahoo.fr ORCID: https://orcid.org/0000-0003-0512-0135 * автор для контактов	
Contribution		Критерии авторства	
E. J. P. Kouadio designed the research concept, provided the analysis tools, wrote the manuscript, and submitted it. K. A. Goudé , K. H. Kouamé and O. J Gbotognon were responsible for data collection and analysis.		Э. Дж. П. Куадио разработал концепцию исследования, предоставил инструменты анализа, написал рукопись и представил ее на рассмотрение. К. А. Гуде , К. Х. Куаме и О. Дж. Гботоньон провели экспериментальные исследования и анализ данных	
Conflict of interest		Конфликт интересов	
The authors declare no conflict of interest.		Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.	

DOI: <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2025-8-1-49-57>

Поступила 22.08.2024

Поступила после рецензирования 27.02.2025

Принята в печать 05.02.2025

© Кишилова С. А., Рожкова И. В., Фоменко О. Ю., 2025

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

Обзорная статья

Open access

ПРОБЛЕМЫ ОБЩЕСТВЕННОГО ЗДОРОВЬЯ И САНИТАРИИ, СВЯЗАННЫЕ С БАКТЕРИЕЙ *PSEUDOMONAS AERUGINOSA*

Кишилова С. А*, Рожкова И. В., Фоменко О. Ю.

Всероссийский научно-исследовательский институт молочной промышленности, Москва, Россия

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: АННОТАЦИЯ

Pseudomonas aeruginosa,
патогенность,
механизмы
устойчивости,
адаптивные
способности,
стратегии
противодействия

К нежелательным микроорганизмам, часто выделяемым в пищевой, в том числе молочной промышленности, можно отнести представителей семейства псевдомонад. Особое значение имеет условно-патогенная бактерия *Pseudomonas aeruginosa*, роль которой в контаминации промышленного оборудования и вторичного инфицирования готовой молочной продукции неуклонно нарастает. Эта грамотрицательная бактерия повсеместно распространена в природе и характеризуется многофакторной резистентностью к широкому спектру антимикробных препаратов и способностью быстро адаптироваться к меняющимся условиям обитания. Являясь чрезвычайно активным биопленкообразователем, *P. aeruginosa* может эффективно колонизировать различные поверхности. Способность к росту в широком температурном диапазоне позволяет бактерии размножаться непосредственно в молоке, при хранении в холодильнике. Проникновение *P. aeruginosa* на предприятия пищевой отрасли приводит к экономическим потерям, вызывая порчу продуктов питания. Являясь причиной широкого спектра острых и хронических заболеваний, *P. aeruginosa* может нести прямую угрозу здоровью человека при попадании в пищевые цепочки. Настоящий обзор посвящен проблемам, связанным с контаминацией *P. aeruginosa* на пищевых предприятиях, а также методам идентификации и контроля данной бактерии. Подтверждается актуальность и необходимость активного поиска и разработки средств для противодействия бактерии *P. aeruginosa*, использующей многогранные механизмы устойчивости к стрессорным воздействиям. Система профилактических мер на предприятиях пищевой отрасли должна предусматривать возможность быстро корректировать комплекс дезинфицирующих мероприятий. Для успешной элиминации такого сложного патогена, как *P. aeruginosa*, желательны комбинации стратегий, разработанные с участием специалистов разного профиля.

Received 22.08.2024

Accepted in revised 27.02.2025

Accepted for publication 05.02.2025

© Kishilova S. A., Rozhkova I. V., Fomenko O. Yu., 2025

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

Review article

Open access

PUBLIC HEALTH AND SANITATION ISSUES RELATED TO THE BACTERIUM *PSEUDOMONAS AERUGINOSA*

Svetlana A. Kishilova*, Irina V. Rozhkova, Oleg Yu. Fomenko

All-Russian Dairy Research Institute, Moscow, Russia

KEY WORDS:

Pseudomonas aeruginosa,
pathogenicity,
resistance
mechanisms, adaptive
abilities, counteraction
strategies

ABSTRACT

Representatives of pseudomonads can be assigned to undesirable microorganisms frequently isolated in the food industry, including the dairy industry. Opportunistic pathogenic bacterium *Pseudomonas aeruginosa* is of particular importance and its role in contamination of industrial equipment and secondary contamination of finished dairy products is growing steadily. This Gram-negative bacterium is ubiquitous in the nature and is characterized by multifactor resistance to a broad spectrum of antimicrobials and the ability of quickly adapt to changing conditions of the habitat. Being quite an active biofilm former, *P. aeruginosa* can effectively colonize various surfaces. The ability to grow in a wide temperature range allows the bacterium to multiply directly in milk upon storage in a refrigerator. Entry of *P. aeruginosa* into enterprises of the food industry leads to economic losses due to food spoilage. Being a cause of a broad spectrum of acute and chronic diseases, *P. aeruginosa* can present a direct threat to human health when entering the food chains. The present review is devoted to the problems linked to *P. aeruginosa* contamination in food enterprises as well as methods of identification and control of this bacterium. The authors confirmed the topicality and necessity of the active search for and development of means to counteract *P. aeruginosa*, which uses multiple mechanisms of stress resistance. The system of prophylactic actions in food industry enterprises should contemplate a possibility of rapid correction of a complex of disinfection measures. To eliminate successfully such a difficult pathogen as *P. aeruginosa*, combinations of strategies developed with participation of specialists of different areas of expertise are desirable.

1. Введение

Проблема безопасности пищевой продукции сохраняет свою актуальность, несмотря на современные достижения в области санитарии и усовершенствование методов контроля. Она усугубляется в связи с растущей во всем мире распространенностью микроорганизмов с множественной лекарственной устойчивостью (МЛУ). Это нежелательное для человека явление особенно усилилось в период пандемии коронавируса в связи с многократно увеличившимся и зачастую бесконтрольным использованием бактерицидных препаратов [1]. Исследование распространенности в пищевых продуктах микроорганизмов с множественной устойчивостью к антимикробным препаратам показало, что их доля составляет от 10% до 50%, причем селекция устойчивых форм может быть вызвана не только

антибиотиками, но и дезинфицирующими средствами [2]. К микроорганизмам, часто выделяемым на пищевых производствах, относится условно-патогенная бактерия *Pseudomonas aeruginosa*. Она обладает исключительно высокими многофакторными адаптивными механизмами, включая способность к быстрому формированию устойчивости к антимикробным веществам. В современных условиях это представляет серьезную проблему как для общественного здравоохранения, так и для пищевой отрасли. Роль данного возбудителя в контаминации промышленного оборудования и вторичного инфицирования готовой молочной продукции возрастает [3–6]. Помимо способности быстро размножаться в охлажденном молоке, *P. aeruginosa* вырабатывает вызывающие порчу молока и молочных продуктов термостабильные ферменты, выдерживающие режимы

ДЛЯ ЦИТИРОВАНИЯ: Кишилова, С. А., Рожкова, И. В., Фоменко, О. Ю. (2025). Проблемы общественного здоровья и санитарии, связанные с бактерией *Pseudomonas aeruginosa*. *Пищевые системы*, 8(1), 49–57. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2025-8-1-49-57>

FOR CITATION: Kishilova, S. A., Rozhkova, I. V., Fomenko, O. Yu. (2025). Public health and sanitation issues related to the bacterium *Pseudomonas aeruginosa*. *Food Systems*, 8(1), 49–57. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2025-8-1-49-57>

пастеризации [5]. Помимо экономических потерь, *P. aeruginosa* представляет прямую угрозу здоровью человека, вызывая множество острых и хронических заболеваний [3]. Воздействие дезинфектантов, применяемых для очистки технологического оборудования и цехов, создает стрессовые условия, способствующие увеличению гетерогенности популяции микроорганизмов. Это повышает риск отбора устойчивых форм и их попадания в пищевые продукты человека. В молоке и молочной продукции, согласно существующим нормативным документам, данный микроорганизм не нормируется, что затрудняет его оперативное выявление в производственных лабораториях. *P. aeruginosa*, являясь одной из ключевых причин нозокомиальных (внутрибольничных) инфекций, активно исследуется в научной литературе. В настоящем обзоре изучаются риски, связанные с контаминацией этим микроорганизмом предприятий пищевой промышленности. Целью обзора являлся анализ литературных источников, касающихся роли *P. aeruginosa* с точки зрения проблем безопасности пищевых систем, а также затрагивающих методы идентификации и поиска путей противодействия данной бактерии.

2. Объекты и методы

В данном обзоре рассматривались исследовательские и обзорные статьи, подходящие под критерии отбора. Основным критерием являлось наличие информации об особенностях микроорганизма, осложняющих его контроль на пищевых производствах и в системе здравоохранения. Также интерес представляли исследования, посвященные рискам безопасности пищевой продукции, обусловленным растущей устойчивостью микроорганизмов к антимикробным препаратам, а также стратегиям ее преодоления. К критериям включения относились язык публикации (английский и русский); ее тип и статус (опубликованные эмпирические и обзорные статьи). Временные рамки анализируемых источников — с 2001 по 2023 гг. Дополнительным критерием отбора являлось наличие доступа к полному тексту статьи. Использовались поисковые запросы по ключевым словам и словосочетаниям: *Pseudomonas aeruginosa*, патогенность, механизмы устойчивости, адаптивные способности, стратегии противодействия. Также были произведены поиски с помощью ключевых слов на английском языке. Поиск научной литературы производился с помощью систем Google Scholar и e-library. Суммарно в базах данных было отобрано 134 источника. В дальнейшем производился скрининг: сначала — по названию и аннотации, затем — по полному тексту. В случае невозможности получения полного текста статья исключалась из рассмотрения. На этапе отбора по названию и аннотации было исключено 13 работ как несоответствующие контексту обзора. При изучении полного текста было исключено 14 источников. По итогам анализа в обзор было включено 108 публикаций.

3. *Pseudomonas aeruginosa* и проблемы санитарии в пищевой отрасли

Алиментарным путем человеку может передаваться более 200 заболеваний. В развитых странах ежегодно около 20% населения инфицируется через воду и продукты питания, в странах с недостаточно развитой системой санитарии при производстве продуктов этот показатель еще выше. Одновременно возрастает и нагрузка на системы обеспечения качества на пищевых производствах. Это обусловлено укрупнением производств, увеличением доли импортных товаров, перенаселенностью мегаполисов и ухудшением экологической обстановки. Ситуация усугубляется глобальной качественной перестройкой микробных сообществ, вызывающих инфекции у человека, с ростом заболеваемости, связанной с условно-патогенными грамотрицательными бактериями [4,7]. К грамотрицательным бактериям, часто выделяемым в пищевой промышленности, относятся представители псевдомонад, и особую опасность среди них представляет синегнойная палочка — *Pseudomonas aeruginosa*. Это связано в том числе с широким применением в молочных хозяйствах систем механического доения и охлаждения молока. Представители псевдомонад составляют около 70% психротрофных микроорганизмов, вызывающих порчу молочных продуктов при хранении в холодильниках [8]. Синтез ими в процессе хранения липолитических и протеолитических ферментов, не инактивирующихся при пастеризации, а также сохранение их остаточной активности при ультрапастеризации, ведет к значимым экономическим потерям [5]. Устойчивость *P. aeruginosa* к широкому спектру стрессовых воздействий, включая обычные дезинфицирующие средства, способствует персистенции бактерий в производственных условиях и, как следствие, делает возможным их попадание в продукты питания на любой стадии производства [9]. Влияние pH, осмотического давления

и температурного воздействия на штаммы синегнойной палочки, выделенные из молочных продуктов в Багдаде, показало, что более 25% штаммов были устойчивы к в течение 16 сек при воздействии температуры 72 °C, около 12% сохраняли жизнеспособность при pH 2,3; и более 20% — в 5% и 7% солевом растворе. Причем 5% концентрация солевого раствора для изолятов из молока была бактериостатической, а 7% — бактерицидной; в то время как для штаммов из мягкого сыра обе концентрации были бактериостатическими. Скорее всего, данное свойство являлось штаммоспецифическим и было связано с генетическими особенностями изолятов [3]. Отмечается, что устойчивость к осмотическому и кислотному стрессам у микроорганизмов способствует формированию толерантности к другим производственным воздействиям, в частности, осмотический стресс коррелирует с вероятностью появления термотолерантных форм [10]. После воздействия высокой температуры клетки *P. aeruginosa* приобретали нетипичную удлинненную форму и образовывали цепочки. Это может указывать на наличие белков, стимулирующих термотолерантность, поскольку нагревание — сильнейший стрессор, способный вызвать устойчивость к другим неблагоприятным факторам [11]. Бактериостатическая переносимость высокого pH также была более свойственна изолятам, выделенным из сыров. Технологические воздействия могут являться причиной перехода бактерий в некультивируемое состояние, при котором метаболическая активность и вирулентность сохраняются, но утрачивается способность к клеточному делению и возможность расти на питательных средах [12]. Длительность пребывания в некультивируемом состоянии у микроорганизмов, в частности, у *P. aeruginosa*, может достигать нескольких месяцев [13]. Выявление таких микроорганизмов требует специальных методов анализа, не всегда доступных для производственных лабораторий. Известно, что молоко и молочные продукты являются благоприятной средой для развития различных, в том числе патогенных и условно-патогенных микроорганизмов, включая *P. aeruginosa*. Источником инфекции на животноводческих и молочных фермах могут являться зараженные животные — *P. aeruginosa* у домашних животных является причиной различных инфекций у молочных коров, овец и коз [14,15]. Доступ стада к неконтролируемым местам водопользования, таким как пруды со стоячей водой, может привести к инфицированию животных, в том числе маститом, вызванным синегнойной палочкой [16]. Инфицированная вода, навоз, многоразовые полотенца для вымени, загрязненные подстилки, корма и оборудование могут быть причиной контаминации производства данным микроорганизмом [14]. Риск инфицирования растительных кормов повышается при использовании навоза и неочищенных сточных вод. Контроль качества используемой на предприятии воды играет важнейшую роль для соблюдения санитарных норм. Особое значение имеет отсутствие контакта источника водоснабжения на производстве со сточными водами. В основном на производствах используется питьевая вода, не содержащая патогенов и колиформных бактерий, однако есть вероятность присутствия в ней представителей псевдомонад [12]. Исследования показывают идентичность штаммов псевдомонад, выделенных из пастеризованного молока в упаковке, и штаммов, обнаруженных на молочном предприятии (в конденсированной воде на разливающих форсунках, сточных водах разливающей машины и окружающем воздухе) [17]. Это подтверждает высокую вероятность инфицирования готовой продукции циркулирующими в производственных помещениях псевдомонадами. На предприятиях пищевой отрасли большая часть как основного, так и вспомогательного оборудования зачастую имеет шероховатые поверхности с труднодоступными участками в виде швов и стыков, что создает хорошие условия для локализации микробных биопленок. Попадание бактерии на пищевые, в том числе молочные производства и животноводческие комплексы по причине неудовлетворительных санитарно-гигиенических условий может привести к образованию на оборудовании биопленок *P. aeruginosa*. Для молочной промышленности риски попадания на производство биопленкообразующих микроорганизмов начинаются на этапе получения молока. Сырое молоко от больных маститом коров или его загрязнение в процессе транспортировки являются основной причиной контаминации молока. Проникновение бактерии на предприятия может быть следствием протекания труб и снижением в них давления жидкости [18]. *P. aeruginosa* как активнейший биопленкообразователь способна образовывать биопленку, в том числе многовидовую, на стенках резервуаров для охлаждения молока и трубопроводов, непосредственно в молоке при хранении в холодильнике [19,20]. Заражения контейнера для молока единственным видом микроорганизма, который может размножаться при температуре охлаждения, достаточно, чтобы вызвать порчу продукта

в течение срока годности. Это связано со способностью *P. aeruginosa* продуцировать термостабильные липазы, протеазы и лецитиназы, вызывающие разнообразные дефекты вкуса, цвета и запаха [21]. Биопленки *P. aeruginosa* термостойки и устойчивы к высоким температурам пастеризации. Постпастеризационное загрязнение жидкого молока психротолерантными бактериями, вызывающими его порчу, играет значительную роль в ограничении срока годности готовой продукции. У псевдомонад подтверждена способность к значительному росту в молоке в течение 21 дня при температуре охлаждения (около 6 °C) [22]. Кроме того, благодаря способности многих штаммов продуцировать антибактериальные вещества и сидерофоры, которые связывают и солюбилизируют железо, *P. aeruginosa* «вытесняет» другие микроорганизмы [23]. Стойкие бактериальные сообщества *P. aeruginosa* могут существовать и вне биопленки, когда вследствие ошибок при проектировании помещений и оборудования возникают ниши, недоступные для обработки дезинфицирующими веществами. Особую опасность представляет оборудование с большим количеством узлов, а также с недоступными для дезинфекции участками при безразборной мойке. Периодическая капитальная чистка оборудования требует остановки производства, что невыгодно с экономической точки зрения и ведет к значительным финансовым потерям.

4. Микробиологическая характеристика и экология

4.1. Общая характеристика

Pseudomonas aeruginosa (синегнойная палочка) — грамотрицательная аэробная психрофильно-мезофильная бактерия. Относится к семейству *Pseudomonadaceae*. В составе семейства на основании гомологии 16S рРНК выделяют 5 групп. *P. aeruginosa* относится к роду *Pseudomonas* (I группа рРНК гомологии) и входит в подгруппу *Fluorescent* наряду с *Pseudomonas fluorescens* и *Pseudomonas putida*. Клетки *P. aeruginosa* имеют форму прямых палочек размером 1–3 мкм. Бактерия способна сохранять жизнеспособность и размножаться при температуре от 6 °C до 42 °C, она каталазо- и оксидазоположительна, подвижна, является активным биопленкообразователем [24,25]. *P. aeruginosa* — облигатный аэроб. При росте на плотных средах у отдельных штаммов наблюдается эффект радужного лизиса. На жидких средах образует характерную поверхностную пленку [26]. Подавляющее большинство штаммов *P. aeruginosa* продуцируют пигменты, причем наличие зеленого пигмента пиоцианина характерно только для *P. aeruginosa* [27]. Рост *P. aeruginosa* часто сопровождается специфическим запахом благодаря продукции летучих соединений различного спектра, определяемых чаще всего как парфюмерно-цветочные. Однако иногда встречаются штаммы, не продуцирующие пахучие вещества [24].

Микроорганизм обладает выраженной протеолитической, пептидазной, протеазной, а также липолитической активностью, гидролизует казеин, утилизирует гемоглобин; восстанавливает нитраты до нитритов и далее до молекулярного азота [24,28].

Геном *P. aeruginosa*, представляющий собой одну кольцевую хромосому, содержит около 7 миллионов пар оснований. 65% составляют комплементарные друг другу гуанин и цитозин [27]. *P. aeruginosa* отличается от других прокариот наибольшим количеством регуляторных генов — до 8,4% от общего размера хромосомы [29].

4.2. Пищевые потребности

Метаболизм синегнойной палочки позволяет ей использовать широкий круг веществ в качестве нутриентов — от простых углеводов и тканей человека и животных до детергентов и биоцидных препаратов [24]. Ограниченная потребность в питательных веществах дает возможность синегнойной палочке сохранять свою жизнеспособность при почти полном отсутствии нутриентов [27]. Даже без источников углерода количество клеток снижается всего на 1–2 порядка. Способность *P. aeruginosa* использовать для роста четвертичные аммониевые и фенолсодержащие соединения позволяет ей сохранять жизнеспособность в растворах дезинфектантов.

4.3. Пигменты *P. aeruginosa*

Подавляющее большинство штаммов *P. aeruginosa* продуцируют пигменты. Это прежде всего зеленый пиовердин, флуоресцирующий при ультрафиолетовом облучении, и водорастворимый пиоцианин, дающий сине-зеленое окрашивание. Интенсивность окрашивания коррелирует с вирулентностью — способностью бактерии лизировать эритроциты [30,31]. Также у синегнойной палочки встречается красный пигмент пиорубин, желтый L-оксифеназин и черно-коричневый пиомеланин. Меланинообразующие штаммы более вирулентны — они легче переносят гипоксию при инфицировании глубоких

тканей благодаря защитному действию пиомеланина от ультрафиолетового излучения и низких концентраций кислорода. Как в клинической практике, так и в объектах внешней среды встречаются и атипичные беспигментные формы, а также штаммы со слабо выраженной пигментацией, что затрудняет их идентификацию. Исследование проб молочных продуктов и мяса с рынков города Ульяновска позволило выделить 35 штаммов *P. aeruginosa*, из них 4 беспигментных формы [32]. Крайне немногочисленные штаммы продуцируют сразу несколько пигментов [30]. Предполагается, что синтез пигмента помогает противостоять повышенному окислительному стрессу. У *P. aeruginosa* обнаружен ген *ospR*, реагирующий на окислительный стресс и регулирующий выработку пигмента. Этот ген также действует на устойчивость *P. aeruginosa* к бета-лактамам [33].

4.4. Бактериоцины

P. aeruginosa способна синтезировать пиоцины — бактериоцины, ингибирующие рост Gr+ и Gr- бактерий. Их физиологическая роль окончательно не ясна, вероятно, они помогают доминированию *P. aeruginosa* в бактериальной эконисше [34]. Описаны 3 типа пиоцинов — R, F и S форм. R и F пиоцины напоминают по форме хвосты бактериофагов и происходят от предкового гена, имеющего сходство с семейством фагов. S тип представляет собой чувствительный к протеазам белок. Гены пиоцинов *P. aeruginosa* расположены в хромосоме, тогда как у большинства других микроорганизмов бактериоцины кодируются плазмидами. Один штамм часто продуцирует несколько пиоцинов, причем уровень их синтеза возрастает при возникновении того или иного фактора стресса [35].

4.5. Сидерофоры

Обладание системами захвата железа из окружающей среды, называемых сидерофорами, позволяет синегнойной палочке лишать человеческие клетки ионов железа, которые необходимы для работы дыхательной цепи [24]. Кроме собственных сидерофоров, *P. aeruginosa* использует для своих нужд гем от гемопротеинов человека. Это явление получило название «сидерофорное пиратство» [36].

4.6. Заболевания, ассоциированные с синегнойной палочкой

Синегнойная палочка может быть причиной ряда заболеваний человека, вызывая острые и хронические инфекции различной этиологии, включая гнойные воспаления ран и ожогов [37,38], заболевания легких и ЛОР-органов [39], заболевания мочеполового тракта [40]. Опасность инфицирования синегнойной палочкой существует при посещении бассейнов и во время бальнеологических процедур; снижение под действием тепла бактерицидной активности хлора может создать условия для образования биопленок *P. aeruginosa* на гидроконструкциях и привести к инфицированию воды [41]. Инфицирование синегнойной палочкой серьезно осложняет лечение травм [42] за счет выработки медиаторов воспаления и токсинов, том числе сильной кислоты [24]. Продукция нескольких контактных токсинов при помощи поверхностного молекулярного комплекса проникающих в цитоплазму клетки, на которой адгезирована *P. aeruginosa* [43], дает ей серьезные преимущества в противоборстве с иммунной системой. Это связано с тем, что контактные токсины, не выходящие во внеклеточную среду, не могут быть нейтрализованы антителами [44]. Смертность от состояний, вызванных *P. aeruginosa*, достигает 38%, и лечение данной инфекции продолжает оставаться непростой задачей. ВОЗ включила *P. aeruginosa* в список важнейших приоритетных патогенов [45].

4.7. Распространение в окружающей среде

P. aeruginosa широко распространена в окружающей среде. Высокая приспособляемость и неприхотливость к источникам питания делает *P. aeruginosa* практически вездесущей. Ее можно встретить в пресной и соленой воде, в стоках промышленных предприятий и медицинских учреждений. Есть данные о положительной корреляции распространения этого микроорганизма с антропогенным загрязнением природных объектов, в том числе нефтепродуктами и пестицидами [46,47]. Бактерия обнаруживается в различных типах почв, на коже теплокровных животных и человека, в мусоре, на поверхностях растений. Вызывает признаки гнили у разных видов салата, картофеля, томатов. В природе может являться патогеном ряда насекомых и паразитировать в простейших [27]. Может длительно сохранять жизнеспособность на различных поверхностях, в том числе на тканях из различных материалов (до трех месяцев). Будучи условно-патогенным, данный микроорганизм способен вызывать у человека ряд тяжелых заболеваний различной этиологии, он является одной из основных причин внутрибольничных инфекций [48].

4.8. Устойчивость к антимикробным препаратам

Как уже отмечалось, главная особенность *P. aeruginosa* — ее высокая приспособляемость к изменяющимся условиям существования и умение противостоять различным стрессорным факторам, в том числе действию антимикробных веществ. По сравнению с другими прокариотами *P. aeruginosa* обладает существенно большим геномом, благодаря чему способна кодировать необычайно большое число регуляторных белков. Это придает микроорганизму очень высокие адаптивные способности по отношению к изменяющимся условиям существования и внешним воздействиям, включая способность быстро развивать устойчивость к множеству классов антимикробных препаратов [49,50,51]. По сравнению с другими грамотрицательными бактериями, для *P. aeruginosa* характерна кодируемая хромосомами сниженная чувствительность к ряду антибиотиков — цефалоспорином, макролидам, ампициллину, неомицину, хлорамфениколу и другим. Она называется врожденной или природной резистентностью [25] и связана с отсутствием мишеней для групп антибиотиков и с наличием ферментов, способных их инактивировать. Однако из-за мутаций и/или снижения активности систем инактивации антибиотиков некоторые штаммы могут проявлять к ним чувствительность [52]. В дикой популяции доля таких чувствительных штаммов находится в интервале 1–3%. Резистентность к другой группе антимикробных субстанций является штаммоспецифичной и реализуется только при обладании приобретенными механизмами устойчивости. Приобретенная устойчивость возникает как результат синтеза новых белков, изменения структуры и функций уже существующих, приобретения извне новых генов и изменения активности существующих [29]. Активация этих процессов ускоряется благодаря особенностям выживших после действия биоцидных веществ клонов *P. aeruginosa*. Их генетический аппарат с вероятностью в 1000 раз выше, чем у среднестатистического штамма дикого типа, склонен к спонтанным мутациям. Это так называемые бактерии гипермутационного фенотипа [53]. Причина его возникновения — поломки системы репарации хромосомной ДНК, полезные для выживания микроорганизма под давлением антимикробных веществ. В результате избирательной селекции сохраняют жизнеспособность только клоны, мутации которых направлены на нейтрализацию факторов стресса [29]. Ресурсы клетки при этом перенаправляются на формирование резистентности в ущерб процессам общего метаболизма. В отсутствие стрессорного давления клоны, продолжающие поддерживать резистентность, вытесняются популяциями с более эффективным метаболизмом [29]. Это явление дает надежду, что в борьбе с глобальной резистентностью микроорганизмов мероприятия по регулированию использования антибиотиков имеют перспективу.

Очень низкая проницаемость внешней мембраны и одновременно эффективно работающая система активного выброса токсичных для клетки веществ — эффлюкса [24], также является важным механизмом устойчивости *P. aeruginosa* к антимикробным препаратам [54]. Система, ответственная за выброс ряда антибиотиков, состоит из трех белков. MexA и MexB, связанные с цитоплазматической мембраной, осуществляют вывод из цитоплазмы в периплазму, а белок OprM, расположенный на внешней клеточной мембране, выводит токсичный для клетки препарат из периплазмы во внешнюю среду. Гены данных белков организованы в единый оперон и регулируются геном *mexR*. У некоторых госпитальных штаммов обнаружена сверхэкспрессия эффлюксных систем, что позволяет им сохранять жизнеспособность в условиях постоянного давления антибиотиков [24].

5. Множественная лекарственная устойчивость у микроорганизмов, ассоциированных с пищевыми продуктами

Нарушения протоколов дезинфекционных процедур, использование интенсивных технологий при выращивании сельскохозяйственных животных, бесконтрольное использование антибиотических препаратов приводят к возникновению форм патогенных микроорганизмов, включая *P. aeruginosa*, обладающих множественными факторами патогенности и устойчивостью к широкому кругу антибиотиков и биоцидных веществ [55]. В сочетании с высоким уровнем внутренней устойчивости к антимикробным препаратам, характерным для *P. aeruginosa*, приобретенная устойчивость способствует появлению штаммов с множественной лекарственной резистентностью, представляющих собой серьезнейшую проблему для общественного здоровья [56]. В большинстве государств проблема множественной лекарственной устойчивости (МЛУ) в последние десятилетия представляет собой серьезную проблему для важнейших секторов экономики, таких как здравоохранение, сельское хозяй-

ство и пищевые производства [57]. Проблема усугубляется нежеланием крупных фармацевтических компаний разрабатывать новые антибактериальные препараты в связи с высокой частотой неудач, штаммоспецифичности и с побочными неприемлемыми влияниями на человеческий организм [58]. Перенос генов антибиотикоустойчивости может осуществляться на плаزمиде, транспозонах, профагах, а также микроорганизмы могут получать эти гены посредством горизонтального переноса, причем не только от одного и того же, но и от разных видов бактерий [59]. Горизонтальный перенос генов может происходить с помощью трансформации — поглощением бактериями фрагментов ДНК из окружающей среды. При активном разрушении бактериальных клеток биоцидными препаратами ДНК высвобождается. При этом показано, что некоторые из используемых в пищевом производстве дезинфицирующих средств способны защищать ДНК от деградации, предотвращая ее разрушение, в том числе бактериальными ДНКазам, увеличивая вероятность горизонтального переноса генов антибиотикорезистентности [60]. Трансдукция (путь передачи ДНК помощью бактериофагов) и конъюгация (обмен генетическим материалом путем установления межклеточного контакта) также являются способами горизонтального переноса генетической информации, управляющей эволюционными процессами в бактериальных сообществах [61]. В настоящее время практически во всех странах мира распространение резистентных штаммов синегнойной палочки достигло глобальных масштабов. Резистентные штаммы *P. aeruginosa* включены Всемирной Организацией Здравоохранения в приоритетный лист патогенов, требующих разработки и поиска новых антимикробных препаратов, а устойчивые к карбапенемам *P. aeruginosa* вошли в перечень бактерий, для которых разработка новых эффективных антибиотиков является острой необходимостью [45].

Распространенность микроорганизмов с множественной лекарственной устойчивостью (МЛУ) возрастает, особенно с учетом повсеместного использования бактерицидных препаратов в период пандемии коронавируса [1]. *P. aeruginosa* как причина порчи продуктов и инфекционный агент, передающийся с водой и пищей, несет экономические потери и представляет угрозу здоровью человека [4]. Исследование распространенности полирезистентных микроорганизмов в пищевых продуктах показало, что их доля составляет до 50% изученных штаммов, причем селекция полирезистентности может быть вызвана не только антибиотиками, но и дезинфицирующими средствами [2]. Стрессовая ситуация, к которой можно отнести и воздействие дезинфектантов, увеличивает генетическую гетерогенность популяции с возможностью отбора устойчивых форм. Изучение распространения форм *P. aeruginosa* с МЛУ, выделенных на молочных предприятиях и в домашних частных хозяйствах Саудовской Аравии, показало высокую долю устойчивых форм — до 81,4% [16], причем в домашних хозяйствах распространенность *P. aeruginosa* была в 5 раз выше и доля штаммов с МЛУ также была велика. Это, скорее всего, связано с массовым бесконтрольным применением в домашних хозяйствах антибиотиков. Чаще всего в обследованных хозяйствах встречались штаммы, резистентные к сульфаниламидам — широко применяемым во многих странах синтетическим антибиотикам с низкой стоимостью [62]. На сегодняшний день МЛУ у *P. aeruginosa*, ассоциированная с пищевыми продуктами, в частности молоком и сырами, попадающими в организм без предварительной термической обработки, еще не стала массовой угрозой общественному здравоохранению. Однако очевидны риски ее нарастания из-за возможной передачи генов устойчивости другим бактериям, патогенным для животных и человека [63,64].

6. Образование биопленок

Одним из самых совершенных механизмов адаптации к стрессовым воздействиям является способность микроорганизмов к образованию биопленок. С учетом обладания свойствами патогенности и резистентности к антимикробным веществам, биопленки представляют собой острую проблему как для общественного здравоохранения (возникновение риска развития у человека значимых инфекций), так и для пищевой промышленности. Биопленки, сформированные на технологическом оборудовании, являются главной причиной вторичного загрязнения пищевых продуктов [3]. Существуют данные, доказывающие, что способность патогенов образовывать биопленки и их антибиотикорезистентность взаимосвязаны [65]. Известно, что бактериальные биопленки обладают значительно большей (в сотни раз) устойчивостью к действию различных стрессорных факторов. Однако при планировании и проведении санитарно-гигиенических мероприятий на перерабатывающих и пищевых производствах чаще всего не учитывается факт

нахождения бактерий в состоянии биопленок. В результате этого санитарные мероприятия становятся неэффективными [55]. Нечувствительность к действию антимикробных агентов связано с наличием в составе биопленки так называемых клеток-персистеров — покоящихся клеток, у которых отмечается блокировка метаболических путей и торможение метаболической активности, в то время как биоцидные препараты ориентированы на клетки с нормальным активным метаболизмом [66]. Устойчивость, опосредованная биопленкой, не зависит от генетических мутаций и возвращается к исходному состоянию при ее разрушении. Наличие у микроорганизмов жгутиков и пилей, которые обеспечивают их подвижность, способствует образованию биопленки [67]. *P. aeruginosa* является чрезвычайно активным биопленкообразователем. Для закрепления на гладкой чистой поверхности микроорганизм сначала образует способную к прилипанию слизь, а потом закрепляется в ней с помощью жгутиков и пилей [49,68]. В процессе формирования биопленки бактерия приобретает мукоидный фенотип с повышением выработки альгината — экзополисахарида, представляющего собой полимер манурановой и глюкуроновой кислот. Альгинат способствует выживаемости микроорганизма во внешней среде, защищая бактерию от поверхностно-активных веществ и бактериофагов. *P. aeruginosa* способна образовывать зрелую биопленку уже через 4 часа после первичного закрепления [18]. Бактерия эффективно колонизирует различные поверхности, включая медицинские материалы (катетеры, имплантаты, контактные линзы и т. д.) [69] и оборудование пищевой промышленности (смесительные баки, чаны и трубки) [70]. Любые устройства, из которых сложно полностью удалить влагу, могут быть потенциальным источником синегнойной инфекции. Цикл биопленкообразования включает в себя первичную адгезию, фиксацию микроорганизма на поверхности, созревание биопленки, ее рост и дисперсию — выброс планктонных клеток, которые могут дать начало образованию новых биопленок. Таким путем цикл образования биопленок повторяется [71]. Для микроорганизмов, входящих в состав биопленки, характерно корпоративное поведение, управляемое системой кворум сенсинга (QS). QS, или чувство кворума, основано на продукции малых сигнальных молекул (феромонов или гормоноподобных соединений) и способности микробов воспринимать эти сигналы [66]. В процессе развития биопленки *P. aeruginosa* изменяются характеристики бактерий — подвижность, интенсивность выработки альгината [72]. В дополнение к развитию биопленки, QS связан с регуляцией других физиологических процессов, включая выработку факторов вирулентности, устойчивость к стрессу, регуляцию метаболизма [73,74]. Микроорганизм обладает 3 системами QS, и все они способствуют образованию биопленок [75]. В зависимости от индивидуальных особенностей штамма и внешних условий, *P. aeruginosa* может формировать биопленки двух типов: плоские, представляющие собой равномерный плотный бактериальный слой, и дифференцированные — типичной грибообразной формы, состоящие из клеток, соединенных разделенным каналами полисахаридным матриксом. Матрица биопленки *P. aeruginosa* в основном состоит из полисахаридов, внеклеточной ДНК, белков и липидов [69]. Важной функцией матрикса является удержание воды, что предохраняет биопленку от изменений водного потенциала и обеспечивает защиту от потери жидкости в сухих условиях [50]. Многие штаммы *P. aeruginosa* образуют слизь, основой которой являются три экзополисахарида — Psl, Pel и гелеобразующий полимер альгинат, чрезвычайно важный для прикрепления к поверхности, формирования и стабилизации структуры биопленки [76]. Экзополисахарид Psl представляет собой нейтральный пентасахарид, обычно содержащий фрагменты d-глюкозы, d-маннозы и l-рамнозы. Этот экзополисахарид необходим для адгезии клеток на поверхностях и обеспечения межклеточных взаимодействий во время образования биопленки как у немуккоидных, так и у мукоидных штаммов [77]. Psl функционирует как сигнальная молекула, стимулирующая образование более толстых и прочных биопленок [78]. Pel представляет собой катионный полисахаридный полимер, отвечающий за образование плоской биопленки, которая образуется на границе раздела фаз воздух-жидкость в статической бульонной культуре [79] и, кроме того, повышает толерантность бактерий, встроенных в биопленку, к аминогликозидным антибиотикам. Синтез Psl и Pel зависит от штамма и может переключаться в зависимости от окружающих условий [79]. Экспрессия большинства факторов вирулентности, включая синтез экзотоксинов и образование биопленки, контролируется системой QS. Экспрессия генов вирулентности происходит только при определенной плотности микробной популяции. Разработка мер, направленных на ингибирование системы QS, является актуальным направлением исследований для контроля вирулентности синегнойной палочки [80].

7. Идентификация

Бактериологический метод остается наиболее доступным и распространенным в микробиологических лабораториях и включает посев исследуемого материала на специальные питательные среды или в среды накопления с дальнейшим высевом на селективные плотные среды. Наличие зеленого пигмента (пиоцианина) и цветочного запаха, характерных только для *P. aeruginosa*, с одновременным обнаружением в мазках при микроскопировании грамотрицательных палочек, позволяет на 2-е сутки идентифицировать около 75% культур [81]. Трудности распознавания *P. aeruginosa* возникают при наличии изолятов, утративших способность к пигментообразованию, продукции экзополисахарида и рамнолипида, а также при формировании некультивируемых форм. Исследователи отмечают определенные трудности с биохимической идентификацией *P. aeruginosa*. Наборы биохимических тестов API показывают высокий уровень неверной идентификации оксидазо-положительных грамотрицательных палочек, включая *P. aeruginosa*. Кроме того, для проведения теста требуется использование чистой бактериальной субкультуры и минимальное время инкубации 48 ч. Следовательно, идентификация с использованием этого метода требует не менее 3 дней [82], кроме того, затруднено использование классических микробиологических методов применительно к *P. aeruginosa* в составе биопленок [5]. В лабораториях все шире внедряется метод ПЦР-диагностики (полимеразной цепной реакции), который позволяет проводить прямое обнаружение ДНК или РНК микроорганизма. Чувствительность и специфичность метода составляют 90–100%, что позволяет за короткое время исследования (от 2 до 5 ч) гарантированно обнаруживать единичные бактериальные клетки. Это дает большое преимущество по сравнению с бактериологическими методами. Предложены специфические праймеры для детекции гена *algD*, кодирующего gdp-дегидрогеназу. Она участвует в продукции альгината у *P. aeruginosa*, кодирующего экзотоксин А гена *toxA*, а также генов *gyrB* и *ecfX* [83]. Возможна одновременная амплификация (multiplex-PCR) генов *oprI* и *oprL*, отвечающих за синтез двух липопroteинов наружной мембраны, которые маркируют флуоресцентную группу псевдомонад и *P. aeruginosa* соответственно. Разработаны подходы с использованием ПЦР в режиме реального времени для количественной оценки содержания геномной ДНК *P. aeruginosa* в составе биопленок. Праймеры и Taqman зонд, специфичные в отношении *GltA* *P. aeruginosa*, дают возможность обнаружить ДНК данного микроорганизма как в суспензионной культуре, так и в составе биопленок [84]. Однако надо учитывать, что высокая чувствительность методов ПЦР может быть и их слабым местом в связи с возможной контаминацией образца и получения ложноотрицательного результата из-за ингибирования различными веществами работы полимеразы [81]. Также отсутствуют нормативные документы, определяющие обязательные мишени и соответствующие праймеры для идентификации *P. aeruginosa*. Несмотря на это, в сложных случаях, в том числе при фенотипической разнородности штаммов синегнойной палочки, преимущества молекулярно-генетических методов очевидны. Таким образом, молекулярные методы могут быть как единственным, так и дополнительным быстрым и надежным тестом для идентификации *P. aeruginosa* [84].

8. Методы контроля

В настоящее время активно разрабатываются различные подходы для контроля нежелательных микроорганизмов, в том числе входящих в состав биопленок [70,85]. Они включают в себя физические методы — так, фототермическая терапия (РТТ) стала привлекательным терапевтическим методом борьбы с устойчивыми к антибиотикам бактериальными инфекциями [86]. Обработка плазмой эффективно инактивировала биопленки *P. aeruginosa* [87]. Высокоинтенсивные световые импульсы, рентген, комбинация ультразвука и пара предложены для недопущения роста псевдомонад и сохранения качества сыров типа моцарелла [88,89,90].

Для повышения эффективности антибиопленочных дезинфицирующих средств применяют детергенты на основе ферментов, способных разрушать компоненты внеклеточного матрикса биопленок, включая *P. aeruginosa* [91]. Однако активность ферментов протеиназ снижается в присутствии молока, поэтому эффективности фермента было недостаточно для стимулирования дальнейшей разработки продукта для применения в молочной отрасли. Важно понимать, что биоцидные средства и процедуры для пищевых предприятий должны соответствовать требованиям безопасности, установленным соответствующими регулирующими органами, и не влиять на вкусовые и питательные свойства продуктов, что особенно актуально для молочной промышленности. Наиболее подходящими были бы

ингибиторы кворума, полученные из пищевых микроорганизмов, растений и других природных источников. Особые перспективы существуют для бактериофагов как для естественных врагов бактерий, способных диффундировать через зрелую биопленку [92]. В клинической практике для лечения инфекций, связанных с биопленками *P. aeruginosa*, успешно зарекомендовал себя недавно открытый литический бактериофаг МКО1 [93]. Фаг использует для связывания с рецептором порин внешней мембраны *P. aeruginosa*, ответственный за систему эффлюкса. Защищаясь от атаки фагов, микроорганизм подавляет систему выведения, в результате чего повышается его чувствительность к антибиотикам [93]. Бактериофаги могут стать потенциальным решением проблемы, однако их использование имеет ряд недостатков. В условиях пищевых производств эффективность фаговых препаратов может варьировать в зависимости от таких производственных факторов, как температура и влажность. Обеспечение их стабильности и процедуры использования пока не имеют готовых решений [94]. Кроме того, известны риски, которые несет использование бактериофагов, при производстве заквасок. Есть исследования, подтверждающие эффективность применения бактериоцинов лактобацилл для борьбы с организованными в биопленки *P. aeruginosa* [95]. Антимикробные пептиды, выделяемые молочнокислыми бактериями, и сами штаммы могут оказывать биоцидное действие на патогены, в том числе в составе биопленок [96–99]. Антимикробные пептиды можно рассматривать как альтернативу антибиотикам и веществам, усиливающим действие других противомикробных препаратов [100]. Их эффективность как антибактериальных агентов проявлялась и по отношению к *P. aeruginosa* [101,102]. Неспецифичность действия антимикробных пептидов также повышает их перспективность в борьбе с биопленками, особенно с учетом способности *P. aeruginosa* сосуществовать в составе биопленки с другими микроорганизмами, потенциально несущими разные гены антибиотикорезистентности и способствующими развитию механизмов горизонтального переноса генов [103,104].

Ведутся работы по изучению антимикробных свойств ароматических растений и эфирных масел [105,106]. Исследования, направленные

на поиск механизмов ингибирования QS, могут предложить эффективные методы подавления патогена. Идеальными источниками действующих веществ для нарушения QS представляются одобренные для пищевой промышленности микроорганизмы, растения и другие природные источники. В различных эфирных маслах обнаружены такие эффективные ингибиторы QS, как циннамальдегид, карвакрол, гексанал, тимол [107]. Однако их использование в качестве пищевых консервантов ограничено из-за резкого запаха и низкой растворимости. Проведенные исследования были сосредоточены на встраивании указанных соединений в наночастицы для возможного использования в пищевой отрасли или для разработок новых технологий упаковки [108]. Кроме того, не было получено данных об отсутствии возникновения резистентности к данным веществам и об их возможном влиянии на экспрессию генов антибиотикорезистентности [5].

9. Выводы

Обладание одной из самых сложных регуляторных систем у бактерий делает *P. aeruginosa*, относящуюся к условно-патогенным микроорганизмам, универсальным микробным патогеном, с практически неограниченными метаболическими возможностями, представляющим реальную угрозу здоровью человека. В целом, обзор литературных источников подтверждает актуальность и необходимость активного поиска и разработки средств для противодействия бактерии *P. aeruginosa*, использующей многогранные механизмы устойчивости к антимикробным воздействиям. Продуманная система профилактических мер с возможностью быстро корректировать комплекс дезинфицирующих мероприятий остается одним из лучших способов борьбы с бактериальным загрязнением в пищевой промышленности. Внедрение новых антисинегнойных препаратов также чрезвычайно актуально. Возможно, наиболее успешные и эффективные методики элиминации такого сложного патогена, как синегнойная палочка, должны включать в себя разработанные с участием специалистов разного профиля комбинации стратегий, приводящих к снижению и эффективному контролю угроз общественному здоровью, связанных с *P. aeruginosa*.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК / REFERENCES

- Atolani, O., Baker, M. T., Adeyemi, O. S., Olanrewaju, I. R., Hamid, A. A., Ameen, O. M. et al. (2020). COVID-19: Critical discussion on the applications and implications of chemicals in sanitizers and disinfectants. *EXCLI Journal*, 9, 785–799. <https://doi.org/10.17179/excli2020-1386>
- Короткевич, Ю. В. (2016). Анализ резистентности к антибиотикам энтеробактерий и энтерококков, выделяемых из пищевых продуктов. *Вопросы питания*, 85(2), 5–13. [Korotkevich, Yu. V. (2016). Antibiotic resistance analysis of *Enterococcus* spp. and *Enterobacteriaceae* spp. isolated from food. *Problems of Nutrition*, 85(2), 5–13. (In Russian)] <https://doi.org/10.24411/0042-8833-2016-00018>
- Шевелева, С. А. (2018). Антибиотикоустойчивые микроорганизмы в пище как гигиеническая проблема (обзорная статья). *Гигиена и санитария*, 97(4), 342–354. [Sheveleva, S. A. (2018). Antimicrobial-resistant microorganisms in food as a hygienic problem. *Hygiene and Sanitation*, 97(4), 342–354. (In Russian)] <https://doi.org/10.47470/0016-9900-2018-97-4-342-354>
- Нежвинская, О. Е., Дудчик, Н. В. (2015). Пленкообразующие бактерии на предприятиях пищевой промышленности. *Современные проблемы гигиены, радиационной и экологической медицины*, 5, 188–194. [Nezhvinskaya, O. E., Dudchik, N. V. (2015). Biofilm forming bacteria from food production. *Modern Problems of Hygiene, Radiation and Ecological Medicine*, 5, 188–194. (In Russian)]
- Télez, S. (2010). Biofilms and their impact on food industry. *VISAVET Outreach Journal*. Retrieved from <https://www.visavet.es/en/articles/biofilms-impact-food-industry.php> Accessed July 11, 2024.
- Banda, R., Nduko, J., Matofari, J. (2020). Bacterial biofilm formation in milking equipments in Lilongwe, Malawi. *Journal of Food Quality and Hazards Control*, 7, 142–148.
- Quintieri, L., Fanelli, F., Caputo, L. (2019). Antibiotic resistant *Pseudomonas* spp. spoilers in fresh dairy products: An underestimated risk and the control strategies. *Foods*, 8(9), Article 372. <https://doi.org/10.3390/foods8090372>
- Al-Shammary, A. H. A. (2015). The effect of heat treatment, pH and osmotic pressure on viability of *Pseudomonas aeruginosa* isolated from raw dairy products in Baghdad. *International Journal of Advanced Research*, 3(3), 675–681.
- Langsrud, S., Sundheim, G., Borgmann-Strahsen, R. (2003). Intrinsic and acquired resistance to quaternary ammonium compounds in food-related *Pseudomonas* spp. *Journal of Applied Microbiology*, 95(4), 874–882. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2672.2003.02064.x>
- Rowbury R. J. (2005). Stress responses of foodborne pathogens, with specific reference to the switching on of such responses. Chapter in a book: *Foodborne Pathogens: Microbiology and Molecular Biology*. Caister Academic Press, U.K., 2005.
- Stintzi, A. (2003). Gene expression profile of *Campylobacter jejuni* in response to growth temperature variation. *Journal of Bacteriology*, 185(6), 2009–2016. <https://doi.org/10.1128/jb.185.6.2009-2016.2003>
- Ефимочкина, Н. Р. (2013). Микробиология пищевых продуктов и современные методы детекции патогенов. Москва, Издательство РАМН, 2013. [Efimochkina, N. R. (2013). Microbiology of food products and modern methods of pathogen detection. Moscow. Russian Academy of Medical Sciences, 2013. (In Russian)]
- Oliver, J. D. (2005). The viable but nonculturable state in bacteria. *Journal of Microbiology*, 43(Spec), 93–100.
- Schauer, B., Wald, R., Urbantke, V., Loncaric, I., Baumgartner, M. (2021). Tracing mastitis pathogens — epidemiological investigations of a *Pseudomonas aeruginosa* mastitis outbreak in an Austrian dairy herd. *Animals*, 11(2), Article 279. <https://doi.org/10.3390/ani11020279>
- Mahmoud, S. F., Fayed, M., Swelum, A. A., Alswat, A. S., Alkafafy, M., Alzahrani, O. M. et al. (2022). Genetic Diversity, Biofilm formation, and antibiotic resistance of *Pseudomonas aeruginosa* isolated from cow, camel, and mare with clinical endometritis. *Veterinary Sciences*, 9(5), Article 239. <https://doi.org/10.3390/vetsci9050239>
- Badawy, B., Mostafa, S., Shata, R., Sayed-Ahmed, M. Z., Alqahtani, S. S., Ali, M. S. et al. (2023). Prevalence of multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* isolated from dairy cattle, milk, environment, and workers' hands. *Microorganisms*, 11(11), Article 2775. <https://doi.org/10.3390/microorganisms11112775>
- Eneroth, Å., Åhrné, S., Molin, G. (2000). Contamination of milk with Gram-negative spoilage bacteria during filling of retail containers. *International Journal of Food Microbiology*, 57(1–2), 99–106. [https://doi.org/10.1016/S0168-1605\(00\)00239-7](https://doi.org/10.1016/S0168-1605(00)00239-7)
- Meesil, N., Mesil, N. (2019). Effect of microbial sanitizers for reducing biofilm formation of *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa* on stainless steel by cultivation with UHT milk. *Food Science and Biotechnology*, 28(1), 289–296. <https://doi.org/10.1007/s10068-018-0448-4>
- Marchand, S., De Block, J., De Jonghe, V., Coorevits, A., Heyndrickx, M., Herman, L. (2012). Biofilm formation in milk production and processing environments; influence on milk quality and safety. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 11(2), 133–147. <https://doi.org/10.1111/j.1541-4337.2011.00183.x>
- Beena, A. K., Ranjini, A. R., Riya, T. G. (2011). Isolation of psychrotrophic multiple drug resistant *Pseudomonas* from pasteurised milk. *Veterinary World*, 4(8), 349–352. <https://doi.org/10.5455/vetworld.2011.349-352>
- Martin, N. H., Boor, K. J., Wiedmann, M. (2018). Symposium review: Effect of post-pasteurization contamination on fluid milk quality. *Journal of Dairy Science*, 101(1), 861–870. <https://doi.org/10.3168/jds.2017-13339>
- Trmčić, A., Martin, N. H., Boor, K. J., Wiedmann, M. (2015). A standard bacterial isolate set for research on contemporary dairy spoilage. *Journal of Dairy Science*, 98(8), 5806–5817. <https://doi.org/10.3168/jds.2015-9490>
- Brown, A. G., Luke, R. K. J. (2010). Siderophore production and utilization by milk spoilage *Pseudomonas* species. *Journal of Dairy Science*, 93(4), 1355–1363. <https://doi.org/10.3168/jds.2009-2395>
- Лазарева, А. В., Чеботарь, И. В., Крыжановская, О. А., Чеботарь, В. И., Маянский, Н. А. (2015). *Pseudomonas aeruginosa*: патогенность, патогенез и патология. *Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия*, 17(3), 170–186. [Lazareva, A.V., Chebotar, I. V., Kryzhanovskaya, O. A., Chebotar, V. I.,

- Mayansky, N. A. (2015). *Pseudomonas aeruginosa*: Pathogenicity, pathogenesis and diseases. *Clinical Microbiology and Antimicrobial Chemotherapy*, 17(5), 170–186. (In Russian)]
25. Pang, Z., Raudonis, R., Glick, B. R., Lin, T.-J., Cheng, Z. (2019). Antibiotic resistance in *Pseudomonas aeruginosa*: Mechanisms and alternative therapeutic strategies. *Biotechnology Advances*, 37(1), 177–192. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2018.11.013>
 26. Шепелин, А. П., Сергеева, А. Б., Полосенко, О. В. (2017). Определение специфической активности питательных сред для *Pseudomonas aeruginosa*. *Бактериология*, 2(1), 54–60. [Shepelin, A. P., Sergeeva, A. B., Polosenko, O. V. (2017). Determination of nutrient medium specific activity for *Pseudomonas aeruginosa*. *Bacteriology*, 2(1), 54–60. (In Russian)]
 27. Егорова О. Н., Брусина Е. В., Григорьев Е. В. (2014). Эпидемиология и профилактика синегнойной инфекции. Федеральные клинические рекомендации. Национальная ассоциация специалистов по контролю инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи. Москва, 2014. [Egorova, O. N., Brusina, E. V., Grigoriev, E. V. (2014). Epidemiology and prevention of *Pseudomonas aeruginosa* infection. Federal clinical recommendations. National Association of Specialists for the Control of Healthcare-Associated Infections. Moscow, 2014 (In Russian)]
 28. Visca, P., Imperi, F., Lamont, I. L. (2007). Pyoverdine siderophores: From biogenesis to biosignificance. *Trends in Microbiology*, 15(1), 22–30. <https://doi.org/10.1016/j.tim.2006.11.004>
 29. Чеботарь, И. В., Боcharова, Ю. А., Маянский, Н. А. (2017). Механизмы резистентности *Pseudomonas aeruginosa* к антибиотикам и их регуляция. *Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия*, 19(4), 308–319. [Chebotar, I. V., Bocharova, Yu. A., Mayansky, N. A. (2017). Mechanisms and regulation of antimicrobial resistance in *Pseudomonas aeruginosa*. *Clinical Microbiology and Antimicrobial Chemotherapy*, 19(4), 308–319. (In Russian)]
 30. Пыж, А. Э., Никандров, В. Н. (2011). Вклад сине-зеленых пигментов *Pseudomonas aeruginosa* в гемолитическую активность культуральной жидкости. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунологии*, 1, 19–25. [Pyzh, A. E., Nikandrov, V. N. (2011). Contribution of blue-green pigments to hemolytic activity of *Pseudomonas aeruginosa* cultural fluid. *Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology*, 1, 19–25. (In Russian)]
 31. Rossi, C., Serio, A., Chaves-López, C., Anniballi, F., Auricchio, B., Goffredo, E. et al. (2018). Biofilm formation, pigment production and motility in *Pseudomonas* spp. isolated from the dairy industry. *Food Control*, 86, 241–248. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2017.11.018>
 32. Шестаков, А. Г. (2010). Усовершенствование методов выделения, идентификации индикации бактерий *Pseudomonas aeruginosa*. Автореферат диссертации на соискание ученой степени кандидата биологических наук. Саратовский государственный аграрный университет им. Н. И. Вавилова. Саратов, 2010. [Shestakov, A. G. (2010). Improving methods for isolation, identification and indication of bacteria *Pseudomonas aeruginosa*. Author's abstract of the dissertation for the scientific degree of Candidate of Biological Sciences. Saratov State Agrarian University named after N. I. Vavilov. Saratov, 2010. (In Russian)]
 33. Quintieri, L., Zühlke, D., Fanelli, F., Caputo, L., Liuzzi, V. C., Logrieco, A. F. et al. (2019). Proteomic analysis of the food spoiler *Pseudomonas fluorescens* ITEM 17298 reveals the antibiofilm activity of the pepsin-digested bovine lactoferrin. *Food Microbiology*, 82, 177–193. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2019.02.003>
 34. Cornelis, P., Dingemans, J., Bayse, C. (2023). *Pseudomonas aeruginosa* Soluble Pycocins as Antibacterial Weapons. Chapter in a book: *Pseudomonas aeruginosa*. Methods in Molecular Biology Humana, New York, NY, 2023. https://doi.org/10.1007/978-1-0716-3473-8_9
 35. Michel-Briand, Y., Bayse, C. (2002). The pycocins of *Pseudomonas aeruginosa*. *Biochimie*, 84(5–6), 499–510. [https://doi.org/10.1016/S0300-9084\(02\)01422-0](https://doi.org/10.1016/S0300-9084(02)01422-0)
 36. MacDonald, I. A., Kuehn, M. J. (2013). Stress-induced outer membrane vesicle production by *Pseudomonas aeruginosa*. *Journal of Bacteriology*, 195(13), 2971–2981. <https://doi.org/10.1128/jb.02267-12>
 37. Фоминих, С. Г. (2011). Раневые инфекции: значение микробиологического мониторинга при составлении больничного формуляра антимикробных препаратов. *Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия*, 13(4), 368–375. [Fominykh, S. G. (2011). Wound infections: A role of microbiological monitoring for the hospital antimicrobial policy. *Clinical Microbiology and Antimicrobial Chemotherapy*, 13(4), 368–375. (In Russian)]
 38. Андреева, С. В., Бахарева, Л. И., Нохрин, Д. Ю. (2013). Видовой состав микрофлоры ожоговых ран пациентов Челябинского областного ожогового центра. *Вестник Челябинского государственного университета*, 7(298), 58–59. [Andreeva, S. V., Bachareva, L. I., Nochrin, D. Yu. (2013). Species composition of microflora of burn wounds of the patients of the Chelyabinsk regional burn center. *Bulletin of Chelyabinsk State University*, 7(298), 58–59. (In Russian)]
 39. Mansoor, T., Musani, M. A., Khalid, G., Kamal, M. (2009). *Pseudomonas aeruginosa* in chronic suppurative otitis media: Sensitivity spectrum against various antibiotics in Karachi. *Journal of Ayub Medical College, Abbottabad*, 21(2), 120–123.
 40. Mittal, R., Aggarwal, S., Sharma, S., Chhibber, S., Harjai, K. (2009). Urinary tract infections caused by *Pseudomonas aeruginosa*: A minireview. *Journal of Infection and Public Health*, 2(3), 101–111. <https://doi.org/10.1016/j.jiph.2009.08.003>
 41. Yu, Y., Cheng, A. S., Wang, L., Dunne, W. M., Bayliss, S. J. (2007). Hot tub folliculitis or hot hand–foot syndrome caused by *Pseudomonas aeruginosa*. *Journal of the American Academy of Dermatology*, 57(4), 596–600. <https://doi.org/10.1016/j.jaad.2007.04.004>
 42. Calhoun, J. H., Murray, C. K., Manring, M. M. (2008). Multidrug-resistant organisms in military wounds from Iraq and Afghanistan. *Clinical Orthopaedics and Related Research*, 466(6), 1356–1362. <https://doi.org/10.1007/s11999-008-0212-9>
 43. Sato, H., Frank, D. W. (2004). ExoU is a potent intracellular phospholipase. *Molecular Microbiology*, 53(5), 1279–1290. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2958.2004.04194.x>
 44. Morlon-Guyot, J., Méré, J., Bonhoure, A., Beaumelle, B. (2009). Processing of *Pseudomonas aeruginosa* exotoxin A is dispensable for cell intoxication. *Infection and Immunity*, 77(7), 3090–3099. <https://doi.org/10.1128/IAI.01390-08>
 45. Tacconelli, E. (2017). Global Priority List of Antibiotic-Resistant Bacteria to Guide Research, Discovery, and Development, Infection Control Africa Network. South Africa. Retrieved from <https://coillink.org/20.500.12592/khnnff> Accessed July 15, 2024.
 46. Pirnay, J. P., Matthijs, S., Colak, H., Chablain, P., Bilocq, F., Van Eldere, J. et al (2005). Global *Pseudomonas aeruginosa* biodiversity as reflected in a Belgian river. *Environmental Microbiology*, 7(7), 969–980. <https://doi.org/10.1111/j.1462-2920.2005.00776.x>
 47. Crone, S., Vives-Flórez, M., Kvich, L., Saunders, A. M., Malone, M., Nicolaisen, M. H. et al. (2020). The environmental occurrence of *Pseudomonas aeruginosa*. *APMIS*, 128(3), 220–231. <https://doi.org/10.1111/apm.13010>
 48. Custovic, A., Smajlovic, J., Hadzic, S., Ahmetagic, S., Tihic, N., Hadzagic, H. (2014). Epidemiological surveillance of bacterial nosocomial infections in the surgical intensive care unit. *Materia Socio Medica*, 26(1), 7–11. <https://doi.org/10.5455/msm.2014.26.7-11>
 49. Breidenstein, E. B. M., de la Fuente-Núñez, C., Hancock, R. E. W. (2011). *Pseudomonas aeruginosa*: All roads lead to resistance. *Trends in Microbiology*, 19(8), 419–426. <https://doi.org/10.1016/j.tim.2011.04.005>
 50. Немченко, У. М., Ситникова, К. О., Белькова, Н. Л., Григорова, Е. В., Воропаева, Н. М., Сухорева, М. В. и др. (2022). Влияние антимикробных препаратов на биопленкообразование *Pseudomonas aeruginosa*. *Вавиловский журнал генетики и селекции*, 26(5), 495–501. [Nemchenko, U. M., Sitnikova, K. O., Belkova, N. L., Grigorova, E. V., Voropaeva, N. M., Sukhoreva, M. V. et al. (2022) Effects of antimicrobials on *Pseudomonas aeruginosa* biofilm formation. *Vavilov Journal of Genetics and Breeding*, 26(5), 495–501. (In Russian)] <https://doi.org/10.18699/VJGB-22-60>
 51. Эйдельштейн, М. В., Шек, Е. А., Сухорукова, М. В., Скленова, Е. Ю., Иванчик, Н. В., Шайдуллина, Э. Р. и др. (2019). Антибиотикорезистентность, продукция карбапенемаз и генотипы нозокомиальных штаммов *Pseudomonas aeruginosa* в стационарах России: результаты многоцентрового эпидемиологического исследования «Марафон 2015–2016». *Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия*, 21(2), 160–170. [Edelstein, M. V., Shek, E. A., Sukhorukova, M. V., Sklenova, E. Yu., Ivanchik, N. V., Shajdullina, E. R. et al. (2019). Antimicrobial resistance, carbapenemase production, and genotypes of nosocomial *Pseudomonas aeruginosa* isolates in Russia: Results of multicenter epidemiological study "Marathon 2015–2016". *Clinical Microbiology and Antimicrobial Chemotherapy*, 21(2), 160–170. (In Russian)]
 52. Ткачева, Т. С., Гатауллина, Э. Ф., Бибарцева, Е. В. (26–27 января, 2022). Механизмы резистентности *Pseudomonas aeruginosa* к антибиотикам. Сборник материалов Всероссийской научно-методической конференции: Университетский комплекс как региональный центр образования, науки и культуры. Оренбург, 2022. [Tkacheva, T. S., Gataullina, E. F., Bibartseva, E. V. (January 26–27, 2022). Mechanisms of resistance of *Pseudomonas aeruginosa* to antibiotics. Proceedings of the All-Russian scientific-methodological conference: University complex as a regional center of education, science and culture. Orenburg, 2022. (In Russian)]
 53. Maciá, M. D., Blanquer, D., Togores, B., Saulea, J., Pérez, J. L., Oliver, A. (2005). Hypermutation is a key factor in development of multiple-antimicrobial resistance in *Pseudomonas aeruginosa* strains causing chronic lung infections. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 49(8), 3382–3386. <https://doi.org/10.1128/aac.49.8.3382-3386.2005>
 54. Коза, Н. М. (2013). Инфекции, связанные с оказанием медицинской помощи. Эпидемиология и профилактика (обзорная лекция). *Пермский медицинский журнал*, 30(4), 135–143. [Kozha, N. M. (2013). Infections connected with rendering medical care. epidemiology and prevention (review lecture). *Perm Medical Journal*, 30(4), 135–143. (In Russian)]
 55. Тутельян, А. В., Юшина, Ю. К., Соколова, О. В., Батаева, Д. С., Фесюн, А. Д., Датий, А. В. (2019). Образование биологических пленок микроорганизмов на пищевых производствах. *Вопросы питания*, 88(3), 32–43. [Tutelyan, A. V., Yushina, Yu. K., Sokolova, O. V., Bataeva, D. S., Fesyun, A. D., Datii, A. V. (2019). Formation of biological films by microorganisms in food productions. *Problems of Nutrition*, 88(3), 32–43. (In Russian)] <https://doi.org/10.24411/0042-8835-2019-10027>
 56. Magiorakos, A. P., Srinivasan, A., Carey, R. B., Carmeli, Y., Falagas, M. E., Giske, C. G. et al. (2012). Multidrug-resistant, extensively drug-resistant and pandrug-resistant bacteria: An international expert proposal for interim standard definitions for acquired resistance. *Clinical Microbiology and Infection*, 18(3), 268–281. <https://doi.org/10.1111/j.1469-0691.2011.03570.x>
 57. Bengtsson-Palme, J., Kristiansson, E., Larsson, D. G. J. (2018). Environmental factors influencing the development and spread of antibiotic resistance. *FEMS Microbiology Reviews*, 42(1), Article fux053. <https://doi.org/10.1093/femsre/fux053>
 58. Fernandes, P., Martens, E. (2017). Antibiotics in late clinical development. *Biochemical Pharmacology*, 133, 152–163. <https://doi.org/10.1016/j.bcp.2016.09.025>
 59. Yaita, K., Sameshima, I., Takeyama, H., Matsuyama, S., Nagahara, C., Hashiguchi, R. et al. (2013). Liver abscess caused by multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* treated with colistin: a case report and review of the literature. *Internal Medicine*, 52(12), 1407–1412. <https://doi.org/10.2169/internalmedicine.52.9296>
 60. Афонюшкин, В. Н., Донченко, Н. А., Козлова, Ю. Н., Давыдова, Н. В., Коптев, В. Ю., Черепушкина, В. С. (2020). Роль биопленок в адаптации микроорганизмов к неблагоприятным факторам окружающей среды на примере *Pseudomonas aeruginosa* (обзор литературы). *Гигиена и санитария*, 99(4), 379–383. [Afonyushkin, V. N., Donchenko, N. A., Kozlova, Ju. N., Davidova, N. V., Koptev, V. Yu. Cherepushkina, V. S. (2020). Questions on the role of biofilms for the adaptation of microorganisms to unfavorable environmental factors by the example of *P. aeruginosa*. *Hygiene and Sanitation*, 99(4), 379–383. (In Russian)] <https://doi.org/10.47470/0016-9900-2020-99-4-379-383>
 61. Hall, J. P., Brockhurst, M. A., Harrison, E. (2017). Sampling the mobile gene pool: Innovation via horizontal gene transfer in bacteria. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 372(1735), Article 20160424. <https://doi.org/10.1098/rstb.2016.0424>
 62. Heir, E., Moen, B., Åsli, A. W., Sundel, M., Langsrud, S. (2021). Antibiotic resistance and phylogeny of *Pseudomonas* spp. isolated over three decades from

- chicken meat in the Norwegian food chain. *Microorganisms*, 9(2), Article 207. <https://doi.org/10.3390/microorganisms9020207>
63. Lerma, L., Benomar, N., Casado Muñoz, M. del C., Gálvez, A., Abriouel, H. (2014). Antibiotic multiresistance analysis of mesophilic and psychrotrophic *Pseudomonas* spp. isolated from goat and lamb slaughterhouse surfaces throughout the meat production process. *Applied and Environmental Microbiology*, 80(21), 6792–6806. <https://doi.org/10.1128/aem.01998-14>
 64. Verraes, C., Van Boxtael, S., Van Meervenne, E., Van Coillie, E., Butaye, P., Catry, B. et al. (2013). Antimicrobial resistance in the food chain: A review. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 10(7), 2643–2669. <https://doi.org/10.3390/ijerph10072643>
 65. Frieri, M., Kumar, K., Boutin, A. (2017). Antibiotic resistance. *Journal of Infection and Public Health*, 10(4), 369–378. <https://doi.org/10.1016/j.jiph.2016.08.007>
 66. Габриелян, Н. И., Горская, Е. М., Романова, Н. И., Цирульников, О. М. (2014). Внутрибольничная инфекция и микробные биопленки в хирургии. *Вестник трансплантологии и искусственных органов*, 14(3), 83–91. [Gabrielyan, N. I., Gorskaya, E. M., Romanova, N. I., Tsurulnikova, O. M. (2014). Nosocomial infection and microbial biofilms in surgery. *Russian Journal of Transplantation and Artificial Organs*, 14(3), 83–91. (In Russian)]
 67. Monroe, D. (2007). Looking for chinks in the armor of bacterial biofilms. *PLoS Biology*, 5(11), Article e307. <https://doi.org/10.1128/iai.01390-08>
 68. Mayansky, A. N., Chebotar, I. V., Rudneva, E. I., Chistyakova, V. P. (2012). *Pseudomonas aeruginosa*: Characteristics of the biofilm process. *Molecular Genetics, Microbiology and Virology*, 27(1), 1–6. <https://doi.org/10.3103/S0891416812010053>
 69. Ghafoor, A., Hay, I. D., Rehm, B. H. A. (2011). Role of exopolysaccharides in *Pseudomonas aeruginosa* biofilm formation and architecture. *Applied and Environmental Microbiology*, 77(15), 5238–5246. <https://doi.org/10.1128/AEM.00637-11>
 70. Coughlan, L. M., Cotter, P. D., Hill, C., Alvarez-Ordóñez, A. (2016). New weapons to fight old enemies: Novel strategies for the (bio) control of bacterial biofilms in the food industry. *Frontiers in Microbiology*, 7, Article 1641. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.01641>
 71. Окулич, В. К., Кабанова, А. А., Плотников, Ф. В. (2017). Микробные биопленки в клинической микробиологии и антибактериальной терапии. Витебск: БГМУ, 2017. [Okulich, V. K., Kabanova, A. A., Plotnikov, F. V. (2017). Microbial biofilms in clinical microbiology and antibacterial therapy. *Vitebsk: VSMU*, 2017. (In Russian)]
 72. Hentzer, M., Teitzel, G. M., Balzer, G. J., Heydorn, A., Molin, S., Givskov, M. et al. (2001). Alginate overproduction affects *Pseudomonas aeruginosa* biofilm structure and function. *Journal of Bacteriology*, 183(18), 5395–5401. <https://doi.org/10.1128/JB.183.18.5395-5401.2001>
 73. Nikolaev, Y. A., Plakunov, V. K. (2007). Biofilm — “City of microbes” or an analogue of multicellular organisms? *Microbiology* 76, 125–138. <https://doi.org/10.1134/S0026261707020014>
 74. Echeverez, M., García, B., Sabalza, A., Valle, J., Gabaldón, T., Solano, C. et al. (2017). Lack of the PGA exopolysaccharide in *Salmonella* as an adaptive trait for survival in the host. *PLoS Genetics*, 13(5), Article e1006816. <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1006816>
 75. Akinobola, A. B., Sherry, L., Mckay, W. G., Ramage, G., Williams, C. (2017). Tolerance of *Pseudomonas aeruginosa* in in-vitro biofilms to high-level peracetic acid disinfection. *Journal of Hospital Infection*, 97(2), 162–168. <https://doi.org/10.1016/j.jhin.2017.06.024>
 76. Billings, N., Ramirez Millan, M., Caldara, M., Rusconi, R., Tarasova, Y., Stocker, R. et al. (2013). The extracellular matrix component Psl provides fast-acting antibiotic defense in *Pseudomonas aeruginosa* biofilms. *PLoS Pathogens*, 9(8), Article e1003526. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1003526>
 77. Ma, L., Conover, M., Lu, H., Parsek, M. R., Bayles, K., Wozniak, D. J. (2009). Assembly and development of the *Pseudomonas aeruginosa* biofilm matrix. *PLoS Pathogens*, 5(3), Article e1000354. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1000354>
 78. Irie, Y., Borlee, B. R., O'Connor, J. R., Hill, P. J., Harwood, C. S., Wozniak, D. J. et al. (2012). Self-produced exopolysaccharide is a signal that stimulates biofilm formation in *Pseudomonas aeruginosa*. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 109(50), 20632–20636. <https://doi.org/10.1073/pnas.1217993109>
 79. Jennings, L. K., Storek, K. M., Ledvina, H. E., Coulon, C., Marmont, L. S., Sadovskaya, I. et al. (2015). Pel is a cationic exopolysaccharide that cross-links extracellular DNA in the *Pseudomonas aeruginosa* biofilm matrix. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 112(36), 11353–11358. <https://doi.org/10.1073/pnas.1503058112>
 80. Bjarnsholt, T., Ciofu, O., Molin, S., Givskov, M., Høiby, N. (2013). Applying insights from biofilm biology to drug development — can a new approach be developed? *Nature Reviews Drug Discovery*, 12(10), 791–808. <https://doi.org/10.1038/nrd4000>
 81. Деревенщикова, М. И., Сыромятников, М. Ю., Попов, В. Н. (2018). Использование молекулярно-генетических методов для микробиологического контроля пищевой продукции. *Техника и технология пищевых производств*, 48(4), 87–113. [Derevenschikova, M. I., Syromyatnikov, M. Yu., Popov, V. N. (2018). The use of molecular genetic methods for microbiological control of food products. *Food Processing: Techniques and Technology*, 48(4), 87–113. (In Russian)] <http://doi.org/10.21603/2074-9414-2018-4-87-113>
 82. Al-Ahmadi, G. J., Roodsari, R. Z. (2016). Fast and specific detection of *Pseudomonas aeruginosa* from other pseudomonas species by PCR. *Annals of Burns and Fire Disasters*, 29(4), 264–267.
 83. Кузнецова, М. В., Павлова, Ю. А., Карпунина, Т. И., Демаков, В. А. (2013). Опыт использования методов молекулярной генетики при идентификации клинических штаммов. *Клиническая лабораторная диагностика*, 3, 34–37. [Kuznetsova, M. V., Pavlova, Yu. A., Karpunina, T. I., Demakov, V. A. (2013). The experience of applying techniques of molecular genetics in identification of clinical strains *Pseudomonas aeruginosa*. *Clinical Laboratory Diagnostics*, 3, 34–37. (In Russian)]
 84. Черепушкина, В. С., Миронова, Т. Е., Афонюшкин, В. Н., Луканина, С. А., Бобикова, А. С., Козлова, Ю. Н. (2021). Разработка ПЦР в режиме реального времени для детекции *P. aeruginosa* в биопленках. *Ветеринарный врач*, 5, 64–72. [Cherepushkina, V. S., Mironova, T. E., Afonyushkin, V. N., Lukanina, S. A., Bobikova, A. S., Kozlova, Yu. N. (2021). Development of PCR in real-time mode for detection of *P. aeruginosa* in biofilm. *Veterinarny Vrach*, 5, 64–72. (In Russian)]
 85. Кузнецов, А. Л., Пучкова, А. С., Князев, Е. Ю., Суворов, О. А. (2023). Формирование биобезопасности и экологизация производственной среды пищевых производств при использовании анолита. *FOOD METAENGINEERING*, 1(2), 11–20. [Kuznetsov, A. L., Puchkova, A. S., Knyazev E. Y., Suvorov O. A. (2023). Formation of biosafety and greening of the production environment of food production with application of anolyte. *FOOD METAENGINEERING*, 1(2), 11–20. (In Russian)] <https://doi.org/10.37442/fme.2023.2.8>
 86. Cappello, S., Guglielmino, S. P. P. (2006). Effects of growth temperature on polystyrene adhesion of *Pseudomonas aeruginosa* ATCC2785. *Brazilian Journal of Microbiology*, 37(3), 205–207. <https://doi.org/10.1590/S1517-83822006000300001>
 87. Vandervoort, K. G., Brelles-Marino, G. (2014). Plasma-mediated inactivation of *Pseudomonas aeruginosa* biofilms grown on borosilicate surfaces under continuous culture system. *PLoS One*, 9(10), Article e108512. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0108512>
 88. Lacivita, V., Conte, A., Lyng, J. G., Arroyo, C., Zambrini, V. A., Del Nobile, M. A. (2018). High intensity light pulses to reduce microbial load in fresh cheese. *Journal of Dairy Research*, 85(2), 232–237. <https://doi.org/10.1017/S0022029918000134>
 89. Lacivita, V., Conte, A., Musavian, H. S., Krebs, N. H., Zambrini, V. A., Del Nobile, M. A. (2018). Steam-ultrasound combined treatment: A promising technology to significantly control mozzarella cheese quality. *LWT*, 93, 450–455. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2018.03.062>
 90. Lacivita, V., Mentana, A., Centonze, D., Chiaravalle, E., Zambrini, V. A., Conte, A. et al (2019). Study of X-Ray irradiation applied to fresh dairy cheese. *LWT*, 103, 186–191. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2018.12.073>
 91. Brackman, G., Coenye, T. (2015). Quorum sensing inhibitors as anti-biofilm agents. *Current Pharmaceutical Design*, 21(1), 5–11. <https://doi.org/10.2174/1581612820066140905114627>
 92. Donlan, R. M. (2009). Preventing biofilms of clinically relevant organisms using bacteriophage. *Trends in Microbiology*, 17(2), 66–72. <https://doi.org/10.1016/j.tim.2008.11.002>
 93. Chan, B. K., Siström, M., Wertz, J. E., Kortright, K. E., Narayan, D., Turner, P. E. (2016). Phage selection restores antibiotic sensitivity in MDR *Pseudomonas aeruginosa*. *Scientific Reports*, 6(1), Article 26717. <https://doi.org/10.1038/srep26717>
 94. Costa, M. J., Pastrana, L. M., Teixeira, J. A., Sillankorva, S. M., Cerqueira, M. A. (2023). Bacteriophage delivery systems for food applications: Opportunities and perspectives. *Viruses*, 15(6), Article 1271. <https://doi.org/10.3390/v15061271>
 95. Сухина, М. А., Шельгин, Ю. А., Жуховицкий, В. Г., Фролов, С. А., Кашников, В. Н., Веселов, А. В. и др. (2018). Перспективы использования антагонистической активности лактобацилл для подавления роста *Clostridium (Clostridioides) difficile*. *Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология*, 12, 19–24. [Sukhina, M. A., Shelygin, Yu. A., Zhukhovitsky, V. G., Frolov, S. A., Kashnikov, V. N., Veselov, A. V. et al. (2018). Prospects of using antagonistic activity of lactobacilli to suppress the growth of *Clostridium (Clostridioides) difficile*. *Experimental and Clinical Gastroenterology*, 12, 19–24. (In Russian)]
 96. Ait Ouali, F., Al Kassaa, I., Cudennec, B., Abdallah, M., Bendali, F., Sadoun, D. et al. (2014). Identification of lactobacilli with inhibitory effect on biofilm formation by pathogenic bacteria on stainless steel surfaces. *International Journal of Food Microbiology*, 191, 116–124. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2014.09.011>
 97. Fedorova, T. V., Vasina, D. V., Begunova, A. V., Rozhkova, I. V., Raskoshnaya, T. A., Gabrielyan, N. I. (2018). Antagonistic activity of lactic acid Lactobacillus spp. against clinical isolates of *Klebsiella pneumoniae*. *Applied Biochemistry and Microbiology*, 54, 277–287. <https://doi.org/10.1134/S0003683818030043>
 98. Savinova, O. S., Glazunova, O. A., Moiseenko, K. V., Begunova, A. V., Rozhkova, I. V., Fedorova, T. V. (2021). Exoproteome analysis of antagonistic interactions between the probiotic bacteria *Limosilactobacillus reuteri* LR1 and *Lactisacibacillus rhamnosus* F and multidrug resistant strain of *Klebsiella pneumoniae*. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(20), Article 10999. <https://doi.org/10.3390/ijms222010999>
 99. Кишилова, С. А., Колоколова, А. Ю., Рожкова, И. В. (2024). Антимикробная активность метаболитных комплексов лактобацилл в отношении *Pseudomonas aeruginosa*. *Биофизика*, 69(2), 324–332. [Kishilova, S. A., Kolokolova, A. Yu., Rozhkova, I. V. (2024). Antimicrobial activity of metabolite complexes of lactobacillus against *Pseudomonas aeruginosa*. *Biophysics*, 69(2), 324–332. (In Russian)] <https://doi.org/10.31857/S0006502924020141>
 100. Lewies, A., Du Plessis, L. H., Wentzel, J. F. (2019). Antimicrobial peptides: The Achilles' heel of antibiotic resistance? *Probiotics and Antimicrobial Proteins*, 11(2), 370–381. <https://doi.org/10.1007/s12602-018-9465-0>
 101. Beaudoin, T., Stone, T. A., Glibowicka, M., Adams, C., Yau, Y., Ahmadi, S. et al. (2018). Activity of a novel antimicrobial peptide against *Pseudomonas aeruginosa* biofilms. *Scientific Reports*, 8(1), Article 14728. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-35016-7>
 102. Moussouni, M., Nogaret, P., Garai, P., Ize, B., Vivès, E., Blanc-Potard, A. B. (2019). Activity of a synthetic peptide targeting MgtC on *Pseudomonas aeruginosa* intramacrophage survival and biofilm formation. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 9, Article 84. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2019.00084>
 103. Nesse, L. L., Simm, R. (2018). Biofilm: A hotspot for emerging bacterial genotypes. Chapter in a book: *Advances in applied microbiology-Academic Press*, 2018.
 104. Тутельян, А. В., Романова, Ю. М., Маневич, Б. В., Юшина, Ю. К., Федорова, Л. С., Синицына, О. А. и др. (2020). Методы борьбы с биологическими пленками на пищевых производствах. *Молочная промышленность*, 11, 48–53. [Tutelyan, A. V., Romanova, Yu. M., Manevich, B. V., Yushina, Yu. K., Fedorova, L. S., Sinitsyna, O. A. et al. (2020). Methods of combating biological films in food production. Название по данному журналу: Biofilm control methods in food production. *Dairy Industry*, 11, 48–53. (In Russian)]
 105. Kong, H., Jang, J. (2008). Synthesis and antimicrobial properties of novel silver/polyrhodanine nanofibers. *Biomacromolecules*, 9(10), 2677–2681. <https://doi.org/10.1021/bm800574x>

106. Dima, C., Dima, S. (2015). Essential oils in foods: Extraction, stabilization, and toxicity. *Current Opinion in Food Science*, 5, 29–35. <https://doi.org/10.1016/j.cofs.2015.07.003>

107. Myszk, K., Schmidt, M. T., Majcher, M., Juzwa, W., Olkowicz, M., Czaczuk, K. (2016). Inhibition of quorum sensing-related biofilm of *Pseudomonas fluorescens* KM121 by *Thymus vulgaris* essential oil and its major bioactive compounds. *International Biodeterioration and Biodegradation*, 114, 252–259. <https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2016.07.006>

108. Bai A, J., Rai Vittal, R. (2014). Quorum sensing regulation and inhibition of exoenzyme production and biofilm formation in the food spoilage bacteria *Pseudomonas psychrophila* PSPF19. *Food Biotechnology*, 28(4), 293–308. <https://doi.org/10.1080/08905436.2014.963601>

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ	AUTHOR INFORMATION
Принадлежность к организации	Affiliation
Кишилова Светлана Анатольевна — младший научный сотрудник, лаборатория прикладной микробиологии и геномики микроорганизмов, Всероссийский научно-исследовательский институт молочной промышленности 115093, Москва, ул. Люсиновская, 35/7 Тел.: +7–499–236–31–64 E-mail: s_kishilova@vnimi.org ORCID: https://orcid.org/0009-000-9498-4757 * автор для контактов	Svetlana A. Kishilova , Junior Researcher Scientist, Laboratory of Applied Microbiology and Genomics of Microorganisms, All-Russian Dairy Research Institute 35/7, Lucinovskaya str., 115093, Moscow, Russia Tel.: +7–499–236–31–64 E-mail: s_kishilova@vnimi.org ORCID: https://orcid.org/0009-000-9498-4757 * corresponding author
Рожкова Ирина Владимировна — кандидат технических наук, старший научный сотрудник, лаборатория прикладной микробиологии и геномики микроорганизмов, Всероссийский научно-исследовательский институт молочной промышленности 115093, Москва, ул. Люсиновская, 35/7 Тел.: +7–499–236–31–64 E-mail: i_rozhkova@vnimi.org ORCID: https://orcid.org/0000-0001-7852-3790	Irina V. Rozhkova , Candidate of Technical Sciences, Senior Researcher, Laboratory of Applied Microbiology and Genomics of Microorganisms, All-Russian Dairy Research Institute 35/7, Lucinovskaya str., 115093, Moscow, Russia Tel.: +7–499–236–31–64 E-mail: i_rozhkova@vnimi.org ORCID: https://orcid.org/0000-0001-7852-3790
Фоменко Олег Юрьевич — кандидат биологических наук, старший научный сотрудник, лаборатория прикладной микробиологии и геномики микроорганизмов, Всероссийский научно-исследовательский институт молочной промышленности 115093, Москва, ул. Люсиновская, 35/7 Тел.: +7–499–236–31–64 E-mail: o_fomenko@vnimi.org ORCID: http://orcid.org/0000-0001-7852-3790	Oleg Yu. Fomenko , Candidate of Biological Sciences, Senior Researcher, Laboratory of Applied Microbiology and Genomics of Microorganisms, All-Russian Dairy Research Institute 35/7, Lyusinovskaya str., 115093, Moscow, Russia Tel.: +7–499–236–31–64 E-mail: o_fomenko@vnimi.org ORCID: http://orcid.org/0000-0001-7852-3790
Критерии авторства	Contribution
Авторы в равных долях имеют отношение к написанию рукописи и одинаково несут ответственность за плагиат.	The author has the sole responsibility for writing the manuscript and is responsible for plagiarism.
Конфликт интересов	Conflict of interest
Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.	The authors declare no conflict of interest.

DOI: <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2025-8-1-58-72>

Поступила 12.09.2024

Поступила после рецензирования 14.03.2025

Принята в печать 17.03.2025

© Бурак Л. Ч., Завалей А. П., Яблонская В. В., Сапач А. Н., 2025



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

Научная статья

Open access

ВЛИЯНИЕ ТЕРМОУЛЬТРАЗВУКОВОЙ ОБРАБОТКИ НА АНТИОКСИДАНТНУЮ АКТИВНОСТЬ СОКА БУЗИНЫ (*SAMBUCUS NIGRA* L.)

Бурак Л. Ч.¹, Завалей А. П.², Яблонская В. В.², Сапач А. Н.^{1*}

¹ Общество с ограниченной ответственностью «БЕЛРОСАКВА», Минск, Республика Беларусь

² Совместное общество с ограниченной ответственностью «Ароматик», Дзержинск, Минская область, Республика Беларусь

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: АННОТАЦИЯ

сок бузины,
пастеризация,
термоультразвуковая
обработка, цветовой
индекс, флавоноиды,
антоцианы,
антиоксидантная
активность

Многочисленные исследования химического состава ягод бузины черной показали, что они содержат биологически активные соединения с высокой антиоксидантной способностью. Цель работы — исследование влияния термоультразвуковой обработки на содержание биологически активных веществ и антиоксидантную активность сока бузины (*Sambucus nigra* L.). В качестве объектов исследований использовали свежееотжатый сок из бузины, сок бузины пастеризованный и подвергнутый термоультразвуковой обработке. Цвет определяли колориметрическим методом, общее содержание флавоноидов, антоцианов и антиоксидантную активность по активности связывания DPPH радикала образцов сока определяли спектрофотометрическим методом. Термообработку ультразвуком проводили в ультразвуковом гомогенизаторе. Установлено, что сок бузины, обработанный термоультразвуком, обладал более высоким цветовым индексом (CD), повышенным значением яркости (L), большим общим цветовым различием (ΔE), а также уменьшенными значениями угла оттенка (h) и индекса желтого (YI). Общее содержание фенолов, флавоноидов и антоцианов в образце, обработанном термоультразвуком (мощность 600 Вт, частота 20 кГц, температура 65 °С, 15 минут), было выше на 13,32%, 251,72% и 94,12% соответственно по сравнению с необработанным образцом и образцом, пастеризованным при 65 °С в течение 30 минут. Способность связывать 1,1-дифенил-2-пикрилгидразил (DPPH) и гидроксильные радикалы (-OH) была увеличена до 65,22% и 51,13% соответственно, что значительно выше, чем у контрольного образца. Содержание основных антоцианов цианидин-3-О-самбубиозита, цианидин-3-О-глюкозида и цианидин-3-О-самбубиозид-5-О-глюкозида составило 987,5 мг/дм³, 752,4 мг/дм³ и 191,4 мг/дм³. Корреляционный анализ показал, что содержание антиоксидантов оказывает значительное влияние на цветовой индекс сока бузины, а цианидин-3-О-глюкозид и цианидин-3-О-самбубиозит определяют яркость или темноту сока. Термическая обработка ультразвуком значительно улучшает содержание общих фенольных соединений, флавоноидов и антоцианов, а также способствует увеличению антиоксидантной активности сока бузины. Результаты позволяют предположить, что данный способ может быть эффективным методом пастеризации сока бузины с сохранением качества и антиоксидантной активности.

Received 12.09.2024

Accepted in revised 14.03.2025

Accepted for publication 17.03.2025

© Burak L. Ch., Zavaley A. P., Yablonskaya V. V., Sapach A. N., 2025

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

Original scientific article

Open access

EFFECT OF THERMOULTRASONIC TREATMENT ON THE ANTIOXIDANT ACTIVITY OF ELDERBERRY (*SAMBUCUS NIGRA* L.) JUICE

Leonid Ch. Burak¹ Andrey P. Zavaley², Veranika V. Yablonskaya², Alexander N. Sapach^{1*}

¹ BELROSAKVA Limited Liability Company, Minsk, Republic of Belarus

² Joint Limited Liability Vompny "Aromatic", Dzherzhinsk, Minsk Region, Republic of Belarus

KEY WORDS:

elderberry juice,
thermoultrasonic
treatment, color
index, flavonoids,
anthocyanins,
antioxidant activity

ABSTRACT

Numerous studies of the chemical composition of black elderberries have shown that they contain biologically active compounds with high antioxidant capacity. The purpose of the work is to study the effect of thermoultrasonic treatment on the content of biologically active substances and antioxidant activity of elderberry (*Sambucus nigra* L.) juice. The research objects were freshly squeezed elderberry juice, pasteurized elderberry juice, and juice subjected to thermoultrasonic treatment. The color was determined by the calorimetric method, the total content of flavonoids, anthocyanins and antioxidant activity by DPPH radical scavenging activity of the juice samples were determined using a spectrophotometric method. Thermal treatment with ultrasound was carried out in an ultrasonic homogenizer. It has been found that elderberry juice treated with thermoultrasound had a higher color index (CD), juice brightness values (L*), overall color difference (ΔE) and lower values of hue angle (h), yellow index (YI). The total content of phenols, flavonoids and anthocyanins in the sample treated with thermoultrasound with a power of 600 W, frequency of 20 kHz, and a temperature of 65 °C for 15 minutes was higher by 13.32%, 251.72% and 94.12%, respectively, compared to the untreated sample and sample pasteurized at 65 °C for 30 minutes. The 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) and hydroxyl radical (-OH) scavenging activities were increased to 65.22% and 51.13%, respectively, which was significantly higher than those of the control sample. The content of the main anthocyanins cyanidin-3-O-sambubioside, cyanidin-3-O-glucoside and cyanidin-3-O-sambubioside-5-O-glucoside was 987.5 mg/dm³, 752.4 mg/dm³ and 191.4 mg/dm³. Correlation analysis has shown that the antioxidant content has a significant effect on the color index of elderberry juice, and cyanidin-3-O-glucoside and cyanidin-3-O-sambubiositol determine the brightness or darkness of the juice. Heat treatment with ultrasound significantly improves the content of total phenolic compounds, flavonoids and anthocyanins, and helps to increase the antioxidant activity of elderberry juice. The results suggest that this method can be an effective method for pasteurizing elderberry juice while maintaining the quality and antioxidant activity.

ДЛЯ ЦИТИРОВАНИЯ: Бурак, Л. Ч., Завалей, А. П., Яблонская, В. В., Сапач, А. Н. (2025). Влияние термоультразвуковой обработки на антиоксидантную активность сока бузины (*Sambucus nigra* L.). *Пищевые системы*, 8(1), 58–72. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2025-8-1-58-72>

FOR CITATION: Burak, L. Ch., Zavaley, A. P., Yablonskaya, V. V., Sapach, A. N. (2025). Effect of thermoultrasonic treatment on the antioxidant activity of elderberry (*Sambucus nigra* L.) juice. *Food Systems*, 8(1), 58–72. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2025-8-1-58-72>

1. Введение

Современный потребитель отдает предпочтение качественным продуктам питания с приемлемым сроком годности, высокой пищевой ценностью и антиоксидантной активностью. Соки являются важной частью рациона питания большинства населения, так как содержат многие питательные вещества, микро- и макроэлементы, минеральные вещества, витамины и другие биологически активные вещества. С целью обеспечения микробиологической стабильности, ингибирования ферментной активности и увеличения срока годности в процессе производства соков широко используется термическая пастеризация. Вместе с тем в процессе пастеризации под действием температуры происходят нежелательные изменения вкуса, цвета и снижение пищевой ценности фруктовых и овощных соков. С этой целью в последние десятилетия разрабатываемые и применяемые в пищевой промышленности способы пастеризации и стерилизации пищевых продуктов ориентированы на использование низкотемпературных систем, сокращение цикла обработки, расширение технологических возможностей, снижение затрат и обеспечение экологической безопасности [1]. Термоультразвуковая обработка (TS) — это термообработка с использованием ультразвука, которая представляет собой современный метод консервирования пищевых продуктов, включающий использование как тепла, так и ультразвука [2]. Термическая обработка ультразвуком (TS), также называемая ультразвуковой тепловой обработкой, считается одним из наиболее перспективных методов нетермической обработки для сохранения фруктовых соков. Данный способ обработки позволяет обеспечить микробиологическую стабильность и таким образом улучшить общее качество и срок годности фруктовых и овощных соков [1,2]. Пищевой продукт в этом процессе подвергается воздействию ультразвука в сочетании с умеренной температурой для повышения эффективности уничтожения микроорганизмов и/или инактивации нежелательных ферментов. Эта комбинация сокращает время и температуру процесса TS, сохраняя цвет, вкус и пищевую ценность продукта [1]. Кроме того, было показано, что обработка TS повышает содержание биологически активных веществ и микробную безопасность некоторых фруктовых соков, включая сок манго [3], сливы [4], карамболы [5], яблочного сока и сока пшеницы [6,7]. Следует также отметить, что за счет низкого энергопотребления данный способ обработки позволяет снизить эксплуатационные расходы, метод предусматривает короткое время обработки, что будет способствовать снижению трудозатрат и повышению эффективности производства [8,9]. Более того, использование ультразвуковой технологии является экологически чистой и признанной «зеленой» технологией, поскольку способствует сокращению использования воды и, следовательно, уменьшению объема сточных вод [10]. На основании полученных данных можно сделать вывод, что обработка TS может быть эффективным альтернативным методом обработки, позволяющим сохранять пищевую ценность соков, снижать энергозатраты и, таким образом, повышать экономическую эффективность производства соков.

Бузина черная (*Sambucus nigra* L.), представитель семейства *Adoxaceae*, распространена в умеренных регионах Европы и других частях северного полушария. Ее простота выращивания и богатый химический состав, а также ее широкая доступность в дикой природе стимулировали повышенный интерес к ее использованию в последние десятилетия [11]. Ягоды черной бузины известны своим высоким уровнем биологически активных соединений, которые способствуют их антидиабетическим, противовирусным и мочегонным свойствам, а также их потенциалу для профилактики атеросклероза, сердечно-сосудистых заболеваний и рака [12,13]. Химический состав плодов бузины черной может значительно различаться в зависимости от таких факторов, как сорт, климат, местоположение и стадия созревания. Основные биологически активные соединения в бузине представлены антоцианами и полифенолами, которые были тщательно изучены научным сообществом различных стран [14,15]. По сравнению с другими ягодами, бузина содержит значительное количество полифенолов. Преобладающие соединения в бузине включают кверцетин-3-рутинозид (рутин), кверцетин, кверцетин-3-глюкозид (изокверцитрин), неохлорогеновую кислоту, криптохлорогеновую кислоту, хлорогеновую кислоту, кемпферол-3-рутинозид, изорамнетин-3-глюкозид (астрагалин) и изорамнетин-3-глюкозид. Среди них рутин является наиболее распространенным, в то время как другие астрагалины, флавонолы и изокверцитрин присутствуют в меньших количествах. Результаты многочисленных исследований подтверждают значительную антиоксидантную активность сока бузины, которая объясняется высоким содержанием фенолов и флавоноидов [14,15,16,17]. Они действуют как антиоксиданты, уменьшают воспаление, модулируют иммунную систему, демонстрируют актив-

ность против рака и демонстрируют широкий спектр противовирусных свойств [14,18].

В целом, бузина является перспективным источником биоактивных ингредиентов и обладает широким потенциалом для разработки функциональных продуктов питания или нутрицевтиков для профилактики и лечения определенных хронических заболеваний [13,14,15]. Необходимы дальнейшие исследования для лучшего понимания факторов до и после сбора урожая, которые влияют на рост и продуктивность растений, а также для изучения новых областей применения и промышленного использования этого малоиспользуемого вида [13,18].

Сок бузины богат антоцианами, которые известны своими биоактивными свойствами и потенциально могут использоваться в качестве натуральных красителей в пищевых продуктах. Эти антоцианы не только придают соку яркий цвет, но и вносят значительный вклад в антиоксидантную способность сока. Однако такие методы обработки, как термоультразвуковая обработка, могут влиять на эти свойства [13]. Было установлено, что термоультразвуковая обработка, сочетающая в себе мягкое тепло и ультразвук, является эффективным методом повышения содержания биоактивных компонентов во фруктовых соках. Например, в айвовом соке термоультразвуковая обработка, оптимизированная при 38,7 °C, 5,6 минут и амплитуде 50,9%, увеличивала общее содержание фенолов и антиоксидантную способность, хотя и приводила к снижению содержания аскорбиновой кислоты [2]. Это говорит о том, что, хотя обработка термоультразвуком может усиливать действие одних биологически активных соединений, она также может разрушать другие в зависимости от их термической чувствительности. Аналогичным образом, сравнительное исследование сока барбариса показало, что обработка ультразвуком, особенно при более высоких амплитудах, привела к увеличению общего содержания фенола и антиоксидантной активности по сравнению с термической обработкой. Следует отметить, что обработка ультразвуком незначительно снижала общее содержание антоцианов и цвет сока по сравнению с термической обработкой. Кинетика разложения антоцианов соответствовала кинетике первого порядка: обработанные ультразвуком образцы имели более длительный период полураспада (111,33–158,58 дней) по сравнению с термически обработанными образцами (64–90 дней) [3]. Это указывает на то, что обработка ультразвуком в меньшей степени разрушает антоцианы, чем термическая обработка, что, возможно, будет приемлемо для сохранения стабильности цвета сока бузины.

Кроме того, на стабильность антоцианов и органолептические показатели сока бузины существенно влияют такие факторы, как pH, время хранения и температура. В исследовании по оценке изменения цвета концентрированного сока бузины было установлено, что время хранения оказывает наиболее существенное влияние на концентрацию антоцианов, при этом pH также играет решающую роль в стабильности цвета [4]. На основании анализа результатов научных исследований можно предположить, что термоультразвуковая обработка будет перспективным способом обработки сока бузины, потенциально повышающим его антиоксидантную активность, за счет сохранения содержания антоцианов и стабильности цвета. Вместе с тем оптимизация параметров обработки, таких как температура, амплитуда и продолжительность, необходима для максимального сохранения биологически активных веществ и минимизации любого неблагоприятного воздействия на чувствительные соединения, такие как аскорбиновая кислота. Результаты исследований соков айвы и барбариса дают возможность предположить, что нетермические методы, такие как обработка ультразвуком, могут быть более эффективны в сохранении качества и биологической активности сока, чем традиционная термическая обработка. В связи с этим целью данной работы стало исследование влияния термоультразвуковой обработки на качество сока из бузины.

2. Материалы и методы

2.1. Приготовление и обработка сока бузины

Ягоды полностью зрелой и качественной бузины черной (сорт «Багацце») были приобретены в РВП «Институт плодоводства». После промывки дистиллированной водой бузину помещали в соковыжималку MJE.1500S (MAUNFELD, Китай) примерно на 15 с для получения сока. Затем сок отфильтровывали через стерильную муслиновую ткань для получения однородной массы. Полученный свежесжатый сок был разделен на три части: свежесжатый сок (необработанный — № 1), пастеризованный сок (№ 2) и сок, подвергнутый термозвуковой обработке различной мощности (№ 3, № 4, № 5).

Для пастеризации 200 мл сока бузины выдержали на водяной бане BW-05B (BEING, Корея) при 65 °C в течение 30 мин. Затем сок

охлаждали на ледяной бане и хранили в холодильнике при температуре 4 °С для дальнейшего анализа.

Для термоультразвуковой обработки 200 см³ сока бузины помещали в ультразвуковой гомогенизатор Scientz-IID Ultrasonic Homogenizer (Ningbo Scientz Biotechnology Co. Ltd., Нинбо, Китай). Ультразвуковую обработку проводили при температуре 65 °С с частотой 20 кГц, рабочим циклом 50% в течение 15 мин. Обработка проводилась при трех различных мощностях — 200 Вт (образец № 3), 400 Вт (образец № 4) и 600 Вт (образец № 5).

Затем сок охлаждали на ледяной бане и хранили при температуре 4 °С до дальнейшего анализа. Параметры обработки, которые использовались в данном исследовании, представлены в Таблице 1.

Таблица 1. Параметры экспериментальных обработок сока бузины

Table 1. Parameters of the experimental treatments of elderberry juice

Номер и наименование образца объемом 200 см ³	Вид и параметры обработки	Температура обработки, °С	Время обработки, мин
№ 1 — свежесжатый сок бузины (контроль)	—	—	—
№ 2 — пастеризованный сок бузины	пастеризация	65	30
№ 3 — сок бузины, обработанный ультразвуком	TS200 Вт, 20 кГц	65	15
№ 4 — сок бузины, обработанный ультразвуком	TS400 Вт, 20 кГц	65	15
№ 5 — сок бузины, обработанный ультразвуком	TS600 Вт, 20 кГц	65	15

2.2. Реагенты

Все необходимые реактивы — натрия фосфат, катехин, галловая кислота (х. ч.), фенольный реактив Фолина, рутин (х. ч.), абсолютный этанол EMPLURA (производитель Merck), карбонат натрия, нитрит натрия, нитрат алюминия, гидроксид натрия, муравьиная кислота, метанол, салициловая кислота, 2,2-дифенил-1-пикрилгидразил (DPPH) — были закуплены у ЗАО «Пять океанов» (Республика Беларусь). Цианидин-3-О-самбубиозид-5-О-глюкозид (Су-3Г), цианидин-3-О-самбубиозит (Су-2Г), цианидин-3-О-глюкозид (Су-Г) (ч. д. а.), метанол и ацетонитрил хроматографической чистоты были закуплены ООО «Ароматик» в Румынии.

2.3. Цвет

Цветовой индекс (CD) рассчитывали по соотношению оптической плотности сока при 520 нм к оптической плотности при 420 нм. Оптическую плотность сока после предварительного разбавления в 10 раз определяли на спектрофотометре UNICO-2800 (United products and instruments, США). Колориметрический анализ цвета сока проводили на спектрофотометре CM-5 KONICA MINOLTA (Konica Minolta Sensing, Япония).

Ход исследования: образцы объемом 80 см³ были откалиброваны ($Y = 93,35$; $x = 0,3152$; $y = 0,3212$) с помощью источника света (D65) и стандартного наблюдателя (2°) для контроля изменений цвета. В соответствии с рекомендациями Международной комиссии по освещению (CIE) значения L^* (светлость/темнота), a^* (краснота/зелень) и b^* (желтизна/синева) были использованы для выражения цвета. Общие цветовые различия (ΔE), цветность C , h и YI рассчитывали с использованием уравнений (1–4) соответственно, для оценки изменений цвета после обработки [19,20].

$$\Delta E = \sqrt{(L^* - L_0)^2 + (a^* - a_0)^2 + (b^* - b_0)^2}. \quad (1)$$

$$C = \sqrt{a^{*2} + b^{*2}}. \quad (2)$$

$$h = b^*/a^*. \quad (3)$$

$$YI = 142,86 \times b^*/L^*. \quad (4)$$

Значения параметров a_0 , b_0 и L_0 представляют собой исходные значения необработанных образцов, a^* , b^* и L^* представляют значения обработанного сока. На основании значений ΔE можно классифицировать как существенно отличающиеся ($\Delta E > 3,5$), отличающиеся ($2 < \Delta E < 3,5$) и незначительно отличающиеся ($0 < \Delta E < 2$) [21].

2.4. Содержание антиоксидантов

2.4.1. Общее содержание фенолов (TPC)

Общее содержание фенольных соединений определяли методом Фолина-Чокальтеу [19], с незначительными изменениями. Ход исследования: образцы сока бузины объемом 1 см³, 1 см³ реагента

Фолина-Чокальтеу и 3 см³ 20% раствора карбоната натрия смешивали и объем доводили до 10 см³ дистиллированной водой. После 15-минутной выдержки в темном месте определяли оптическую плотность образца при 760 нм с помощью спектрофотометра MC-124 (SOL instrumens GmbH, Аугсбург, Германия). Калибровочный график строили с использованием стандартного раствора галловой кислоты (0–100 мкг/см³, $R^2 = 0,9979$). TPC анализируемых образцов выражали в мкг-экв галловой кислоты (GAE) на см³ сока.

2.4.2. Общее содержание флавоноидов (TFC)

Общее содержание флавоноидов определяли спектрофотометрическим методом. Ход исследования: образцы сока бузины 1 см³ смешивали с 0,2 см³ 5% раствора нитрата натрия. Смесь оставляли на 6 мин. После этого в смесь добавляли 0,2 см³ 10% раствора нитрата алюминия и оставляли еще на 6 мин. Затем добавляли 4,0 см³ 4% раствора гидроксида натрия и оставляли на 15 мин. Оптическую плотность образца определяли с помощью спектрофотометра MC-124 (SOL instrumens GmbH, Аугсбург, Германия) при 500 нм. В качестве стандартного раствора использовался рутин, калибровочный график (0,1–0,8 мг/см³, $R^2 = 0,9991$), результаты выражали в мг-экв рутина (RE) на см³ сока.

2.4.3. Общее содержание антоцианов (TAC)

Экстракты готовили смешиванием 2 см³ сока бузины и 2 см³ безводного спирта, затем на водяной бане при 40 °С добавляли 4 см³ фосфатного буферного раствора (pH = 1,0) и 4 см³ фосфатного буферного раствора (pH = 4,0). Измерение проводили спектрофотометром MC-124 (SOL instrumens GmbH, Аугсбург, Германия), определяя поглощение при 520 и 700 нм с использованием дистиллированной воды в качестве раствора сравнения. Содержание антоцианов (с) рассчитывали по формуле (уравнения 5 и 6):

$$\Delta A = (A_{520} - A_{700})_{pH=1} - (A_{520} - A_{700})_{pH=4,5}, \quad (5)$$

$$C = \frac{\Delta A \times V \times DF \times M}{\epsilon m L} \times 100\%, \quad (6)$$

где V — общий объем экстракта;
 DF — коэффициент разбавления;
 M — масса образца;
 m — молекулярная масса цианидин-3-О-глюкозида (449,2 г/моль);
 ϵ — коэффициент экстинкции цианидин-3-О-глюкозида (29 600 дм³/моль·см);
 L — длина пути светового пучка в растворе.

2.5. Антиоксидантная активность

2.5.1. Способность связывать радикалы DPPH

Антиоксидантную активность образцов сока определяли по активности поглощения радикалов DPPH в соответствии с методами, применяемыми в исследовании Qiu, X. et al. [22], с некоторыми изменениями. Ход исследования: реакционную и контрольную смесь готовили путем добавления либо 1 см³ образцов сока, либо 1 см³ воды соответственно к 4 см³ раствора DPPH (безводный спирт в качестве растворителя). Затем смесь инкубировали при комнатной температуре в течение 20 мин в темном месте. Изменения цвета анализировали при 517 нм с помощью спектрофотометра MC-124 (SOL instrumens GmbH, Аугсбург, Германия). Активность ингибирования радикалов рассчитывали по уравнению (7):

$$DPPH = (A_0 - A_i)/A_0 \times 100, \quad (7)$$

где A_0 и A_i — значения оптической плотности контрольных образцов и образцов сока соответственно.

2.5.2. Способность связывать гидроксильные радикалы (•ОН)

Также была определена способность образцов сока связывать радикалы •ОН, следуя описанному методу [22], с некоторыми модификациями. Реакционную и контрольную смесь готовили путем добавления 1 см³ проб сока или воды соответственно к смеси 1 см³ раствора сульфата железа (9 ммоль/л), 1 см³ раствора салициловой кислоты (9 ммоль/л, спирт в качестве растворителя) и 2 см³ раствора перекиси водорода. Смесь выдерживали при 37 °С в течение 30 мин в термостате ТВ-80 (Государственный Рязанский приборный завод, Россия). Оптическую плотность образцов измеряли при 510 нм с помощью спектрофотометра MC-124 (SOL instrumens GmbH, Аугсбург, Германия). Результаты были рассчитаны по уравнению 8:

$$\bullet OH = (A_0 - A_i)/A_0 \times 100, \quad (8)$$

где A_0 и A_i — значения оптической плотности контрольных образцов и образцов сока соответственно.

Таблица 2. МС-спектральные данные идентифицированных антоцианов

Table 2. MS spectral data of identified anthocyanins

Название антоциана	Время удержания, мин	[МН] + m/z	Ион-продукт m/z	Уравнение регрессии	R ²
Цианидин-3-О-самбубиозид –5-О-глюкозид	25,21	465	580,229	Y = 3852,8x + 104,103	0,998
Цианидин-3-О-самбубиозит	36,78	449	287,137	Y = 9894,3x + 276,898	0,996
Цианидин-3-О-глюкозид	38,76	319	287,214	Y = 996,44x + 12,340	0,999

Примечание: R² — коэффициент вариации.**2.6. Определение антоцианов методом ВЭЖХ–МС**

Антоцианы разделяли хроматографическими методами, используя ВЭЖХ хроматограф Agilent 1200 Infinity (Agilent Technologies, Германия) с диодно-матричным и масс-спектрометрическим детекторами [23]. Разделение достигалось с использованием колонки TSK gel ODS-100Z (150 × 4,6 мм, 2 мкм, Tosoh), поддерживаемой при 25 °С, с использованием смеси муравьиной кислоты и метанола (0,1%, по объему) в качестве подвижной фазы А, и муравьиной кислоты и ацетонитрила (0,1%, об./об.) в качестве подвижной фазы Б. Использовали следующую градиентную программу: 8–12% Б (0–2 мин), 12–18% Б (2–5 мин), 18–20% Б (5–10 мин), 20–25% Б (10–12 мин), 25–30% Б (12–15 мин), 30–45% Б (15–18 мин), 45–80% Б (18–20 мин) и 80–2% Б (20–25 мин). Объем инъекции составлял 5,0 мм³, скорость потока — 0,3 см³/мин. Анализ методом ионизации электрораспылением проводили в режиме положительных ионов, используя азот как газ. Были обеспечены следующие настройки прибора: напряжение капилляра — 4500 В, напряжение конуса — 25 В, температура источника — 400 °С, температура десольватации — 320 °С, скорость потока элюирующего растворителя — 220 мм³/мин. Спектральные данные МС представлены в Таблице 2.

2.7. Микробиологический анализ

Общее количество мезофильных аэробных и факультативно анаэробных микроорганизмов (КМАФАнМ), плесневых грибов и дрожжей определяли количественным методом, путем прямого посева в микробиологические среды. Агаровая Среда № 1 (NAHRAGAR DEV — Agar, производства компании Doehler GmbH (Германия) в соответствии с ГОСТ Р 52711–2007¹). Результаты выражали в виде логарифма колониеобразующих единиц (КОЕ) на см³ образца сока. Все анализы проводились в трех повторностях.

2.8. Статистический анализ

Все экспериментальные обработки были выполнены три раза, и были получены средние результаты, выраженные как среднее значение ± стандартное отклонение. Данные изучались с помощью однофакторного дисперсионного анализа ANOVA, а для подтверждения значимости между обработками использовался критерий множественного диапазона Дункана ($p < 0,05$). Анализы проводили с использованием программного обеспечения SPSS25. Изображения были проанализированы с помощью MATLAB2016b для получения красного, зеленого и синего (RGB) цветов.

3. Результаты и обсуждения**3.1. Влияние термозвуковой обработки (TS) на цвет сока бузины****3.1.1. Цветовой индекс**

Как показано на Рисунке 1, значения цветового индекса (CD) в каждой группе обработки увеличились по сравнению с образцом № 1. Кроме того, в образцах № 3–5 значения CD значительно возрастали с повышением мощности ультразвука и были максимальными при мощности 600 Вт (65 °С, в течение 15 мин). Увеличение цветового индекса в образцах № 3–5 может быть связано с растворением антоцианов, которому способствует обработка TS, что приводит к увеличению видимого спектра, особенно при поглощении 420 нм и 510 нм [24].

3.1.2. Определение цвета

Цветовые показатели (L^* , C , h) образцов № 1 (21,19; 4,86; 22,88) и № 2 (21,54; 4,26; 21,26) не имеет существенных различий (Таблица 3). Однако термозвуковая обработка увеличила значение L^* и значительно уменьшила значения C и h по сравнению с образцами № 1 и № 2. Наибольшая яркость (L^*) наблюдалась у образца № 3. Хотя дальнейшее увеличение мощности ультразвука (400 и 600 Вт) имело тенденцию к уменьшению значений L^* , это снижение было незначительным по сравнению с тем, которое наблюдалось при мощности

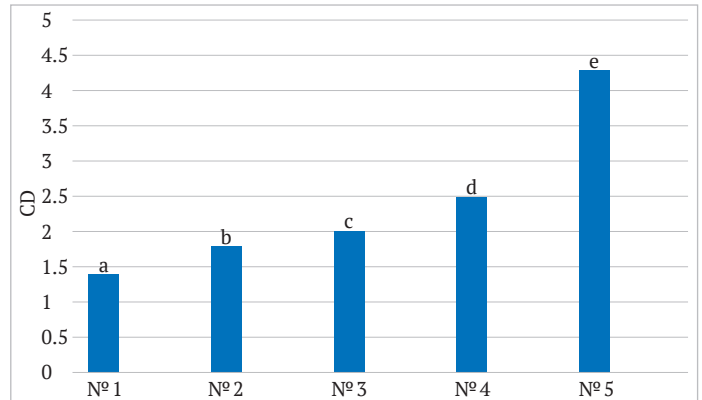


Рисунок 1. Влияние термозвуковой обработки (TS) на цветовой индекс (CD) сока бузины

Разные буквы a, b, c, d, e в одном столбце указывают на значительное расхождение между данными ($p < 0,05$).

Figure 1. Effect of thermosonic treatment (TS) on the color index (CD) of elderberry juice

Different letters a, b, c, d, e in the same column indicate significant differences between data ($p < 0,05$).

200 Вт. Аналогичные результаты отрицательной корреляции между L^* и содержанием пигмента были также получены для соков манго и клубники [24]. Кроме того, значения C и h значительно снизились во всех образцах, обработанных TS (при мощности 200, 400 и 600 Вт) по сравнению с образцами № 1 и № 2. Уменьшение оттенка сока после обработки TS может быть связано с гидроксигированием ароматического кольца фенолов, приводящим к увеличению интенсивности красного цвета [19].

Значение YI не имело существенных различий между образцами № 1 и № 2, тогда как в образцах № 3–5 оно значительно возросло. Кроме того, меньшее значение ΔE (< 2) в образце № 2 (0,7), как показано в Таблице 3, указывает на то, что пастеризация (60 °С, 30 мин) сока бузины незначительно повлияла на цвет. В то же время значение ΔE в образце № 5 составляло 35,17, что намного больше, чем для образца № 2. Это указывает на значительное влияние ультразвуковой обработки на цвет сока бузины. Данные результаты соответствовали значениям цветового индекса C . Вместе с тем понимание основного механизма изменения цвета и его влияния на качество сока требует дальнейшего изучения.

Таблица 3. Изменение цветовых показателей сока из бузины ($p < 0,05$)Table 3. Changes in the color indicators of elderberry juice ($p < 0,05$)

Образец	L^*	C	h	YI	ΔE
№ 1	21,19 ± 2,57 ^a	4,86 ± 2,98 ^b	22,88 ± 4,84 ^d	–12,26 ± 7,17 ^a	–
№ 2	21,54 ± 0,20 ^a	4,26 ± 0,17 ^b	21,26 ± 0,70 ^d	–10,24 ± 0,81 ^a	0,70 ± 0,24 ^a
№ 3	27,77 ± 1,37 ^b	0,80 ± 0,03 ^a	–50,12 ± 1,91 ^a	–3,16 ± 0,20 ^b	30,83 ± 4,11 ^c
№ 4	27,12 ± 1,36 ^b	1,15 ± 0,39 ^a	–36,17 ± 6,56 ^b	–3,05 ± 0,68 ^b	21,30 ± 0,81 ^b
№ 5	25,65 ± 0,60 ^b	0,98 ± 0,21 ^a	–28,61 ± 1,97 ^c	–2,61 ± 0,49 ^b	35,17 ± 2,41 ^c

Примечание: разные буквы a, b, c, d в одном столбце указывают на значительное расхождение между данными ($p < 0,05$).

3.2. Влияние термозвуковой обработки на общее количество антиоксидантных соединений

Установлено, что цветовые характеристики связаны с содержанием и активностью биологически активных соединений и антиоксидантных веществ [19]. Поэтому мы проанализировали содержание антиоксидантов (TPC, TFC и TAC) и способность к ингибированию радикалов в образцах сока при разных параметрах обработки.

¹ ГОСТ Р 52711–2007 «Производство соковой продукции. Методы микробиологического анализа с применением специальных микробиологических сред». М.: Стандартинформ, 2007. — 19 с.

3.2.1. Общее содержание фенолов

Фенольные соединения оказывают влияние на здоровье человека, препятствуя развитию различных заболеваний. Более того, они также играют значительную роль в формировании вкуса и цвета продукта. Результаты изменения содержания биологически активных веществ и антиоксидантной активности сока бузины в зависимости от параметров и способа обработки представлены в Таблице 4. В данном исследовании TPC в образцах № 1 и № 2 составлял 3,56 и 4,37 GAE мг/см³ соответственно, как показано в Таблице 4, и был значительно выше в образцах № 3–5 ($p < 0,05$). Следует отметить, что увеличение интенсивности ультразвука увеличивает TPC образцов. Кроме того, TPC в образце № 5 (8,52 GAE мг/см³) превышало на 94,97% значение в образце № 2 (4,37 GAE мг/см³). Более высокий TPC в образцах № 3–5, чем в образце № 2, может быть обусловлен более значительным высвобождением фенольных соединений в результате высокоинтенсивной ультразвуковой обработки, вызывающей разрушение клеток [25]. Кроме того, увеличение содержания фенольных соединений в образцах № 3–5 также можно объяснить образованием микрополостей во время процесса термозвуковой обработки, что увеличивает скорость массопереноса. Аналогичные результаты термозвуковой обработки на TPC были зарегистрированы в черничном вине [26], в соке карамболы [5] и черной смородины [25].

Таблица 4. Изменение содержания биологически активных веществ и антиоксидантной способности сока бузины

Table 4. Changes in the content of biologically active substances and antioxidant capacity of elderberry juice

Образец	TPC (GAE мг/см ³)	TFC (RE мг/см ³)	TAC (Сус мг/см ³)	DPPH (% ингибирования)	ОН (% ингибирования)
№ 1	4,31 ± 0,15 ^a	0,47 ± 0,01 ^a	1,29 ± 0,13 ^a	47,80 ± 1,01 ^a	51,68 ± 0,41 ^a
№ 2	4,14 ± 0,56 ^b	0,61 ± 0,02 ^b	1,44 ± 0,12 ^b	50,37 ± 0,98 ^b	50,76 ± 0,62 ^b
№ 3	4,28 ± 0,12 ^c	0,62 ± 0,01 ^c	1,76 ± 0,14 ^b	51,71 ± 0,63 ^b	52,69 ± 0,67 ^b
№ 4	4,49 ± 0,09 ^d	0,88 ± 0,01 ^d	1,93 ± 0,21 ^c	59,56 ± 0,80 ^c	53,63 ± 0,58 ^b
№ 5	7,84 ± 0,19 ^e	1,84 ± 0,02 ^e	2,15 ± 0,04 ^d	70,22 ± 0,86 ^d	56,13 ± 0,23 ^c

Примечание: разные буквы a, b, c, d в одном столбце указывают на значительное расхождение между данными ($p < 0,05$).

3.2.2. Общее содержание флавоноидов

Как показано в Таблице 4, изменения TFC следовали той же тенденции, что и изменения TPC в соке бузины. TFC в образцах № 1 и № 2 составляло 0,47 и 0,61 RE мг/см³ соответственно, в образцах № 3–5 оно увеличивалось ($p < 0,05$). Самое высокое TFC зафиксировано в образце № 5 (1,84 RE мг/см³), что в три раза выше, чем в образце № 2 (0,61 RE мг/см³), и в четыре раза выше, чем в образце № 1 (0,47 RE мг/см³). Результаты этого исследования были аналогичны результатам предыдущих исследований свиной сливы [4], яблочного и виноградного сока [27].

Результаты влияния обработки TS на TPC и TFC показали, что пастеризация в сочетании с ультразвуком была эффективнее, по сравнению с традиционной пастеризацией. В ранее проведенных исследованиях [28] было установлено, что термическая обработка снижает содержание TPC в яблочном соке. Более того, авторы исследования Abid et al. сообщили, что образцы, обработанные при 60 °C, имели более высокое сохранение TPC и TFC, чем образцы при более низких температурах (20 °C или 40 °C) [28]. В нашем исследовании более низкая мощность ультразвука от 200 до 400 Вт оказала незначительное влияние на TFC и TPC, чем TS мощностью 600 Вт. В совокупности эти результаты указывают на более высокую эффективность TS, чем пастеризация, по увеличению содержания TPC и TFC сока бузины.

3.3. Общее содержание антоцианов

Антоцианы — наиболее значимые биологически активные соединения, содержащиеся в ягодах бузины. Как показано в Таблице 4, TAC в образцах № 1 и № 2 составлял 1,29 и 1,44 Сус мг/см³ соответственно. Однако обработка TS увеличила TAC по сравнению с обработкой пастеризацией. Наибольшее содержание антоцианов установлено в образце № 5 (1,55 Сус мг/100 см³).

Следует отметить, что в некоторых исследованиях было установлено негативное влияние ультразвука. Например, содержание антоцианов снизилось после ультразвуковой обработки в клубничном соке [29]. Причиной была названа деградация антоцианов, вызванная образованием перекиси водорода во время окисления аскорбиновой кислоты из-за нестабильности и легкого распада аскорбиновой кислоты при высоких температурах.

Вместе с тем, в совокупности, полученные нами результаты позволяют предположить, что TS увеличивает общее содержание антиоксидантов, включая TPC, TFC и TAC, в соке бузины.

3.4. Влияние ТС на антиоксидантную активность сока бузины

3.4.1. Способность связывать радикалы DPPH

Способность к связыванию радикалов DPPH образцов, полученных при различных обработках, показана в Таблице 4. Способность образцов № 1 и № 2 к улавливанию радикалов DPPH составляла 47,8% и 50,4% соответственно. В то же время в образце № 5 наблюдалась самая высокая активность ингибирования DPPH (70,22%), что в 1,5 и 1,4 раза превышало значения для образцов № 1 и № 2 соответственно. Однако существенных изменений между образцами № 2 и № 3 не установлено. Аналогичные результаты были получены при исследовании клубничного сока [24]. Ранее сообщалось об улучшенной стабильности фенольных соединений и повышении антиоксидантной активности морковного сока, обработанного термозвуком (40–60 °C, 110 Вт, 40 кГц) [30]. Увеличение может быть связано с высоким содержанием фенольных соединений в соке после ультразвуковой обработки более высокой интенсивности, вызванной кавитацией. Она возникает во время обработки ультразвуком, что повышает эффективность извлечения и доступность этих соединений [31].

3.4.2. Способность связывать гидроксильные радикалы (•ОН)

Как показано в Таблице 4, способность к связыванию •ОН в свежем выжатом и пастеризованном соке составляла 51,68% и 50,76% соответственно, а в соке, обработанном TS, значительно возрастала ($p < 0,05$). Более того, способность к улавливанию •ОН в образце № 5 (56,13%) была значительно выше, чем в образце № 2, что указывает на то, что обработка TS низкой интенсивности не приводила к значительному увеличению этой способности.

Полученные результаты позволяют предполагать, что повышенные антиоксидантные способности сока, обработанного TS, могут быть связаны с увеличением содержания антиоксидантных соединений. TS может изменить структуру сока бузины, разрушив клеточную стенку и способствуя увеличению высвобождения связывающих фенольных кислот, что приведет к улучшению антиоксидантной способности [26].

3.5. Состав антоцианов

Как показано в Таблице 5, основными антоцианами с наибольшим содержанием в соке бузины были идентифицированы: цианидин-3-О-самбубиозид-5-О-глюкозид, цианидин-3-О-самбубиозит и цианидин-3-О-глюкозид. Образец № 2 содержал меньшее количество Су-2G и Су3G по сравнению с образцом № 1. Содержание Су-2G снизилось на 14% или на 78,2 мг/дм³, а содержание Су-3G снизилось на 28,3 мг/дм³ или 20% соответственно. Результаты других исследований показали, что длительное воздействие на антоцианы при высоких температурах ускоряет образование халконов, что приводит к деградации антоцианов [32]. Таким образом, можно сделать вывод, что воздействие высокой температуры во время пастеризации могло привести к деградации этих двух антоцианов, тем самым уменьшив их содержание. Напротив, содержание антоциана Су-G в образце № 2 увеличилось по сравнению с образцом № 1. Следует отметить, что в образцах № 3, № 4 и № 5 содержание Су-G, Су-2G значительно увеличилось по сравнению с образцами № 1 и № 2, тогда как увеличение содержания Су-3G было менее значительным. Из трех идентифицированных антоцианов цианидин-3-О-глюкозид был наиболее изменяемым антоцианом, и его содержание значительно возрастало с увеличением интенсивности обработки ультразвуком (в образцах № 4 и № 5 установлено значительно большее количество Су-G, чем в образцах № 1 и № 2). Кроме того, содержание двух других в процессе термозвуковой обработки также увеличилось. Так, например, по сравнению с образцом № 1 содержание цианидин-3-О-самбубиозита в образцах № 3, № 4 и № 5 выросло на 15,8%, 53% и 77,2% соответственно. Результаты нескольких исследований показали, что экстракция с помощью ультразвука способствовала повышению эффективности извлечения антоцианов. Результаты данного исследования подтверждают, что ультразвуковая обработка не разрушает антоцианы. Кроме того, при более высокой интенсивности ультразвуковой обработки это может вызвать значительное разрушение клеточных стенок, что приведет к миграции антоцианов в сок. Также ранее было установлено, что мощность ультразвука высокой интенсивности существенно снижает активность пероксидазы (ПОД) и полифенолоксидазы (ПФО), которые в основном ответственны за ферментативную деградацию антоцианов и за потемнение сока [33].

Таблица 5. Содержание основных антоцианов в образцах сока бузины

Table 5. Content of the main anthocyanins in the samples of elderberry juice

Образец	Су-Г — Цианидин-3-О-глюкозид (мг/дм ³)	Су-2Г — Цианидин-3-О-самбубиозит (мг/дм ³)	Су-3Г — Цианидин-3-О-самбубиозид-5-О-глюкозид (мг/дм ³)
№ 1	396,2 ± 31,4 ^b	557,4 ± 46,3 ^a	141,5 ± 21,1 ^a
№ 2	441,9 ± 11,8 ^a	479,2 ± 11,6 ^{ab}	113,2 ± 12,3 ^a
№ 3	517,6 ± 33,5 ^b	645,2 ± 43,6 ^{bc}	148,6 ± 15,5 ^a
№ 4	729,2 ± 56,4 ^c	853,3 ± 52,0 ^c	178,7 ± 14,7 ^a
№ 5	752,4 ± 60,4 ^d	987,5 ± 17,8 ^c	191,4 ± 23,8 ^a

Примечание: разные буквы a, b, c, d в одном столбце указывают на значительное расхождение между данными ($p < 0,05$)

3.6. Корреляция между содержанием антиоксидантов и антиоксидантной активностью

Неоднократно доказано, что на антиоксидантную активность оказывает влияние состав и количество биологически активных соединений и антиоксидантных веществ. Установлена корреляция между ТРС, ТРС, ТАС, отдельными антоцианами и антиоксидантной активностью. Коэффициент корреляции между ТРС, ТРС, ТАС, отдельными антоцианами и антиоксидантной способностью был выше 0,9, что указывает на наличие значимой положительной корреляции между антиоксидантами и антиоксидантной активностью. Среди трех типов антоциановых пигментов Су-Г, способный связывать радикалы DPPH и •ОН, показал самый высокий коэффициент корреляции ($R^2 = 0,98; 0,96$). Это свидетельствует о том, что антоциан цианидин-3-О-глюкозид оказывает значительное влияние на улучшение антиоксидантной активности.

Исследования гранатового и виноградного соков [34] и клубничного сока [24] показали, что цветовые характеристики и ТАС играют важную роль в улучшении антиоксидантной активности. В ходе данного исследования установлена заметная положительная корреляция между антиоксидантной активностью и ТРС, ТРС и ТАС. Аналогичные результаты были получены при исследовании клубничного сока [24] и томатного сока [35]. Результаты, полученные в ходе нашего исследования, подтвердили, что антиоксидантные компоненты оказывают значительное влияние на повышение общей антиоксидантной активности сока. Однако значимой корреляции между цветовыми характеристиками (L^* , YI , CI и TCD) и антиоксидантной способностью, за исключением цветового индекса, не наблюдалось. Коэффициент корреляции между цветовым индексом и антиоксидантной способностью был выше 0,9, что указывает на то, что значение цветового индекса может играть ключевую роль в улучшении общей антиоксидантной активности сока бузины.

Антоцианы — это пигменты, которые придают окраску цветам, фруктам и овощам. Цветовые характеристики антоцианов варьируются в зависимости от типа пигментов. Установлена значительная положительная корреляция между тремя типами антоциановых пигментов и CD , YI и TCD . Цветовой индекс CD показал самый вы-

сокий коэффициент корреляции с содержанием антоцианов Су-Г, Су-2Г и Су-3Г ($R^2 = 1; 0,98; 0,84$ соответственно), за ним следовали TCD ($R^2 = 0,85; 0,74; 0,68$) и YI ($R^2 = 0,89; 0,69; 0,55$). Эти результаты показали, что все три типа антоцианов играют значительную роль в изменении цветового индекса сока бузины. Между Су-Г и C и h установлена отрицательная корреляция. Напротив, между L^* и Су-Г существовала значительная положительная корреляция, позволяющая предположить, что яркость или темнота сока определялась содержанием антоциана Су-Г. Влияние содержания основных антоцианов на цвет сока бузины показано на Рисунке 2.

В предыдущих исследованиях других авторов было показано, что ультразвуковая обработка, играющая важную роль в определении цвета фруктовых вин, может влиять на стабильность активных компонентов и ускорять деградацию, конденсацию или полимеризацию антоцианов. Li и соавторы указали, что изменение содержания цианидин-3,5-диглюкозида, петунидин-3,5-диглюкозида, пеониин-3,5-диглюкозида, мальвидин-3,5-диглюкозида, петунидин-3-кумароил-5-глюкозида и мальвидин-3-(п-кумароил)-утинозид-5-глюкозида при умеренной ультразвуковой обработке было основным фактором, определяющим изменение цвета черничного вина [26]. В данном исследовании установлено, что содержание трех антоциановых пигментов Су-Г, Су-2Г и Су-3Г является основными детерминантами цвета сока бузины.

3.7. Микробиологические показатели безопасности

Результаты микробиологических исследований соков представлены в Таблице 6.

Таблица 6. Влияние обработок на микробиологическую обсемененность сока бузины

Table 6. Effect of treatments on the microbiological contamination of elderberry juice

Образец сока	КМАФАнМ (log КОЕ/см ³)
№ 1	4,38 ± 0,01
№ 2	Не обнаружены
№ 3	1,21 ± 0,09
№ 4	Не обнаружены
№ 5	Не обнаружены

Общее количество мезофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов (КМАФАнМ) не обнаружены в образце № 2 сока, который подвергался пастеризации, по сравнению контрольным образцом (4,38 ± 0,01). Инактивация микроорганизмов в образце № 2 может быть связана с тепловой обработкой, поскольку высокие температуры вызывают инактивацию метаболических ферментов и денатурацию белков, что нарушает неповрежденную структуру микроорганизма и изменяет присущую морфологию определенных клеток, приводя к необратимому повреждению клеток и к гибели микроорганизма [1]. Значительное снижение микробиологической обсемененности установлено в образце № 3, после термоультразвуковой обработки при температуре 65 °C в течение 15 минут (TS200 Вт, 20 кГц), 1,21 ± 0,09 log КОЕ/см³, относительно контрольного образца

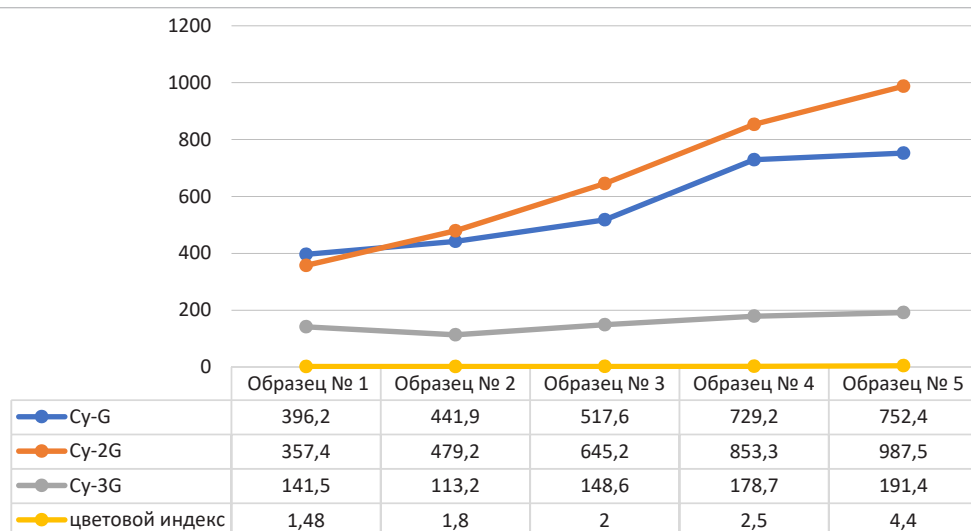


Рисунок 2. Влияние содержания основных антоцианов на цветовой индекс сока бузины

Figure 2. Effect of the content of the main anthocyanins on the color index of elderberry juice

($4,38 \pm 0,01 \log \text{КОЕ/см}^3$). Термоультразвуковая обработка сока TS400 Вт, 20 кГц (образец № 4) и TS600 Вт, 20 кГц (образец № 3) при температуре 65 °C в течение 15 минут обеспечила полную инактивацию мезофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов (КМАФАнМ). Снижение общей микробиологической обсемененности достигается при повышении мощности ультразвука и за счет воздействия температуры обработки. Аналогичные результаты инактивации микроорганизмов под действием термоультразвуковой обработки получены и в других исследованиях [3,6].

4. Выводы

В результате проведенного исследования установлено, что термоультразвуковая обработка, в особенности обработка с высокой интенсивностью 600 Вт в течение 15 минут, способствовала значительному повышению в соке бузины содержания общих фенольных соединений, флавоноидов и антоцианов, ингибированию радикалов DPPH и •ОН, а также снижению общей микробиологической обсе-

ненности продукта. Результаты исследования также показали, что термоультразвуковая обработка способствует увеличению содержания трех антоциановых пигментов, включая цианидин-3-О-глюкозид, цианидин-3-О-самбубиозит и цианидин-3-О-самбубиозид-5-О-глюкозид, которые идентифицированы как основные антоцианы в соке бузины. Кроме того, обработка сока бузины термоультразвуком значительно улучшила его цветковые характеристики. Результаты исследования показывают, что для получения сока бузины с более высоким содержанием антиоксидантов и максимальной антиоксидантной активностью необходимо использовать термозвуковую обработку с высокой мощностью. Результаты позволяют предположить, что данный способ может быть эффективным методом пастеризации сока бузины с сохранением качественных показателей и антиоксидантной активности. Вместе с тем следует отметить, что для понимания влияния качественного и количественного состава антоцианов на цвет сока бузины и для оптимизации параметров его переработки необходимы дальнейшие исследования.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК / REFERENCES

- Бурак, Л. Ч. (2021). Существующие способы обработки пищевых продуктов и их влияние на пищевую ценность и химический состав. *Технологии пищевой и перерабатывающей промышленности АПК — продукты здорового питания*, 3, 59–73. [Burak, L. Ch. (2021). Existing food processing methods and their impact on nutritional value and chemical composition. *Technologies of the Food and Processing Industry of the Agro-industrial Complex — Healthy Food Products*, 3, 59–73. (In Russian)] <https://doi.org/10.24412/2311-6447-2021-3-59-73>
- Anaya-Esparza, L. M., Velazquez-Estrada, R. M., Roig, A. X., Garcia-Galindo, H. S., Sayago-Ayerdi, S. G., Montalvo-Gonzalez, E. (2017). Thermosonication: An alternative processing for fruit and vegetable juices. *Trends in Food Science and Technology*, 61, 26–37. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2016.11.020>
- Qureshi, T. M., Nadeem, M., Maken, F., Tayyaba, A., Majeed, H., Munir, M. (2020). Influence of ultrasound on the functional characteristics of indigenous varieties of mango (*Mangifera indica* L.). *Ultrasonics Sonochemistry*, 4, Article 104987. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2020.104987>
- Oladunjoye, A. O., Adebeyejo, F. O., Okekunbi, T. A., Aderibigbe, O. R. (2021). Effect of thermosonication on quality attributes of hog plum (*Spondias mombin* L.) juice. *Ultrasonics Sonochemistry*, 70, Article 105316. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2020.105316>
- Nayak, P. K., Chandrasekar, C. M., Kesavan, R. K. (2018). Effect of thermosonication on the quality attributes of star fruit juice. *Journal of Food Process Engineering*, 41(7), Article e12857. <https://doi.org/10.1111/jfpe.12857>
- Liao, H., Jiang, L., Cheng, Y., Liao, X., Zhang, R. (2018). Application of nisin-assisted thermosonication processing for preservation and quality retention of fresh apple juice. *Ultrason Sonochem*, 42, 244–249. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2017.11.020>
- Sulaiman, A., Farid, M., Silva, F. V. (2017). Quality stability and sensory attributes of apple juice processed by thermosonication, pulsed electric field and thermal processing. *Food Science and Technology International*, 23(3), 265–276. <https://doi.org/10.1177/1082013216685484>
- Chavan, P., Sharma, P., Sharma, S. R., Mittal, T. C., Jaiswal, A. K. (2022). Application of high-intensity ultrasound to improve food processing efficiency: A review. *Foods*, 11(1), Article 122. <https://doi.org/10.3390/foods11010122>
- More, P. R., Jambak, A. R., Arya, S. S. (2022). Green, environment-friendly and sustainable techniques for extraction of food bioactive compounds and waste valorization *Trends in Food Science and Technology*, 128, 296–315. <http://doi.org/10.1016/j.tifs.2022.08.016>
- Fetyan, N. A. H., Salem Attia, T. M. (2020). Water purification using ultrasound waves: Application and challenges. *Arab Journal of Basic and Applied Sciences*, 27(1), 194–207. <http://doi.org/10.1080/25765299.2020.1762294>
- Vujanović, M., Majkić, T., Zengin, G., Beara, I., Cvetanović, A., Mahomoodally, F. M. et al. (2019). Advantages of contemporary extraction techniques for the extraction of bioactive constituents from black elderberry (*Sambucus nigra* L.) flowers. *Industrial Crops and Products*, 136, 93–101. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2019.04.058>
- Gomez Mattson, M. L., Corfield, R., Bajda, L., Pérez, O. E., Schebor, C., Salvatori, D. (2021). Potential bioactive ingredient from elderberry fruit: Process optimization for a maximum phenolic recovery, physicochemical characterization, and bioaccessibility. *Journal of Berry Research*, 11, 51–68. <http://doi.org/10.3233/JBR-200629>
- Бурак, Л. Ч., Сапач, А. Н. (2023). Биологически активные вещества бузины: свойства, методы извлечения и сохранения. *Пищевые системы*, 6(1), 80–94. [Burak, L. Ch., Sapach, A. N. (2023). Biologically active substances of elder: Properties, methods of extraction and preservation. *Food Systems*, 6(1), 80–94. (In Russian)] <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2023-6-1-80-94>
- Najgebauer-Lejko, D., Liszka, K., Tabaszewska, M., Domagała, J. (2021). Probiotic yoghurts with sea buckthorn, elderberry, and sloe fruit purees. *Molecules*, 26(8), Article 2345. <https://doi.org/10.3390/molecules26082345>
- Marţiş (Petruţ), G. S., Mureşan, V., Marc (Vlaic), R. M., Mureşan, C. C., Pop, C. R., Buzău, G. et al. (2021). The physicochemical and antioxidant properties of *Sambucus nigra* L. and *Sambucus nigra* Haschberg during growth phases: From buds to ripening. *Antioxidants*, 10(7), Article 1093. <https://doi.org/10.3390/antiox10071093>
- Vujanović, M., Majkić, T., Zengin, G., Beara, I., Tomović, V., Šojić, B. et al. (2020). Elderberry (*Sambucus nigra* L.) juice as a novel functional product rich in health-promoting compounds. *RSC Advances*, 10(73), 44805–44814. <https://doi.org/10.1039/D0RA09129D>
- Młynarczyk, Walkowiak-Tomczak, Staniek, H., Kidoń, M., Łysiak, G. P. (2020). The content of selected minerals, bioactive compounds, and the antioxidant properties of the flowers and fruit of selected cultivars and wild growing plants of *Sambucus nigra* L. *Molecules*, 25(4), Article 876. <https://doi.org/10.3390/molecules25040876>
- Бурак, Л. Ч. (2022). Использование бузины (*Sambucus nigra* L.) в пищевой промышленности: состояние и дальнейшие перспективы (обзор). *Химия растительного сырья*, 3, 49–69. [Burak, L. Ch. (2022). Use of elderberry (*Sambucus nigra* L.) in the food industry: Status and future prospects. Overview. *Khimiya Rastitel'nogo Syr'ya*, 3, 49–69. (In Russian)] <https://doi.org/10.14258/jcprm.20220310937>
- Ordóñez-Santos, L. E., Martínez-Girón, J., Arias-Jaramillo, M. E. (2017). Effect of ultrasound treatment on visual color, vitamin C, total phenols, and carotenoids content in Cape gooseberry juice. *Food Chemistry*, 233, 96–100. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.04.114>
- Walkowiak-Tomczak, D., Czapski, J., Młynarczyk, K. (2017). Assessment of colour changes during storage of elderberry juice concentrate solutions using the optimization method. *Acta Scientiarum Polonorum Technologia Alimentaria*, 15(3), 299–309. <https://doi.org/10.17306/j.ajs.2016.3.29>
- Suo, G., Zhou, C., Su, W., Hu, X. (2022). Effects of ultrasonic treatment on color, carotenoid content, enzyme activity, rheological properties, and microstructure of pumpkin juice during storage *Ultrasonics Sonochemistry*, 84, Article 105974. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2022.105974>
- Qiu, X., Su, J., Nie, J., Zhang, Z., Ren, J., Wang, S. et al. (2024). Effects of thermosonication on the antioxidant capacity and physicochemical, bioactive, microbiological, and sensory qualities of blackcurrant juice. *Foods*, 13(5), Article 809. <https://doi.org/10.3390/foods13050809>
- Дейнека, В. И., Олейник, Е. Ю., Павлов, А. А., Михеев, А. Ю., Шелепова, О. В., Волкова, О. Д., Хлебникова, Е. И. (2020). Определение антоцианов плодов некоторых растений рода *Ribes* методами обращенно-фазовой ВЭЖХ и гидрофильной хроматографии. *Химия растительного сырья*, 1, 81–88. [Deineka, V. I., Oleinits, E. Yu., Pavlov, A. A., Mikheev, A. Yu., Shelepova, O. V., Volkova, O. D., Khlebnikova, E. I. (2020). Determination of anthocyanins of fruits of some plants of the genus *Ribes* by reversed-phase HPLC and hydrophilic interaction chromatography (HILIC). *Khimiya Rastitel'nogo Syr'ya*, 1, 81–88. (In Russian)] <https://doi.org/10.14258/jcprm.2020016331>
- Wang, J., Wang, J., Ye, J. H., Vanga, S. K., Raghavan, V. (2019). Influence of high-intensity ultrasound on bioactive compounds of strawberry juice: Profiles of ascorbic acid, phenolics, antioxidant activity and microstructure. *Food Control*, 96, 128–136. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2018.09.007>
- Ruiz-De Anda, D., Ventura-Lara, M. G., Rodríguez-Hernández, G., Ozuna, C. (2019). The impact of power ultrasound application on physicochemical, antioxidant, and microbiological properties of fresh orange and celery juice blend. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 13(4), 3140–3148. <https://doi.org/10.1007/s11694-019-00236-y>
- Li, X. S., Zhang, L., Peng, Z. Y., Zhao, Y. Q., Wu, K. Y., Zhou, N. et al. (2020). The impact of ultrasonic treatment on blueberry wine anthocyanin color and its In-vitro anti-oxidant capacity. *Food Chemistry*, 333, Article 127455. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.127455>
- Aadil, R. M., Zeng, X. A., Zhang, Z.-H., Wang, M.-S., Han, Z., Jing, H. et al. (2015). Thermosonication: A potential technique that influences the quality of grapefruit juice. *International Journal of Food Science and Technology*, 50(5), 1275–1282. <https://doi.org/10.1111/ijfs.12766>
- Abid, M., Jabbar, S., Hu, B., Hashim, M. M., Wu, T., Lei, S. C. et al. (2014). Thermosonication as a potential quality enhancement technique of apple juice. *Ultrasonics Sonochemistry*, 21(3), 984–990. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2013.12.003>
- Xu, B., Feng, M., Chitrakar, B., Cheng, J., Wei, B., Wang, B. et al. (2023). Multi-frequency power thermosonication treatments of clear strawberry juice: Impact on color, bioactive compounds, flavor volatiles, microbial and polyphenol oxidase inactivation. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 84, Article 105295. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2023.105295>
- Adiamo, O. Q., Ghafoor, K., Al-Juhaimi, F., Babiker, E. E., Mohamed Ahmed, I. A. (2018). Thermosonication process for optimal functional properties in carrot juice containing orange peel and pulp extracts. *Food Chemistry*, 245, 79–88. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.10.090>

31. Adiamo, O. Q., Ghafoor, K., Al-Juhaimi, F., Mohamed Ahmed, I. A. M., Babiker, E. (2017). Effects of thermosonication and orange by-products extracts on quality attributes of carrot (*Daucus carota*) juice during storage. *International Journal of Food Science and Technology*, 52(9), 2115–2125. <https://doi.org/10.1111/ijfs.13490>
32. Thomasi, S. S., de Benedicto, D. F. C., da Conceição Alves, T., Bellele, B. S., Venâncio, T., de Andrade Mattietto, R. et al. (2024). Chemical constituents of açai berry pulp (*Euterpe oleracea* Mart.) by LC-UV-BPSU/NMR and LC-UV-SPE/NMR. *Natural Product Research*, 4, Article 2338805. <https://doi.org/10.1080/14786419.2024.2338805>
33. da Silveira, T. F. F., Cristianini, M., Kuhnle, G. G., Ribeiro, A. B., Filho, J. T., Godoy, H. T. (2019). Anthocyanins, non-anthocyanin phenolics, tocopherols and antioxidant capacity of acai juice (*Euterpe oleracea*) as affected by high pressure processing and thermal pasteurization. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 55, 88–96. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2019.05.001>
34. Baron, M., Prusova, B., Tomaskova, L., Kumsta, M., Sochor, J. (2017). Terpene content of wine from the aromatic grape variety 'Irsai Oliver' (*Vitis vinifera* L.) depends on maceration time. *Open Life Sciences*, 12(1), 42–50. <https://doi.org/10.1515/biol-2017-0005>
35. Lafarga, T., Ruiz-Aguirre, I., Abadias, M., Vinas, I., Bobo, G., Aguilo-Aguayo, I. (2019). Effect of thermosonication on the bioaccessibility of antioxidant compounds and the microbiological, physicochemical, and nutritional quality of an anthocyanin-enriched tomato juice. *Food and Bioprocess Technology*, 12(1), 147–157. <https://doi.org/10.1007/s11947-018-2191-5>

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ	AUTHOR INFORMATION
Принадлежность к организации	Affiliation
Бурак Леонид Чеславович — кандидат технических наук, директор, Общество с ограниченной ответственностью «БЕЛРОСАКВА» 220118, Республика Беларусь, Минск, ул. Шаранговича, 19, офис 718 Тел.: +375–29–646–65–25 E-mail: leonidburak@gmail.com ORCID: https://orcid.org/0000-0002-6613-439X	Leonid Ch. Burak , 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: https://orcid.org/0000-0002-6613-439X
Завалей Андрей Петрович — начальник испытательной лаборатории, Совместное общество с ограниченной ответственностью «Ароматик» 222112, Республика Беларусь, Минская область, Дзержинск, ул. Колхозная, 1 Тел.: +375–29–129–01–98 E-mail: zavaley@gmail.com ORCID: https://orcid.org/0000-0002-6565-5927	Andrey P. Zavaley , Head of Testing Laboratory, Joint Limited Liability Company "Aromatic" 1, Kolkhoznaya Str., Dzherzhinsk, Minsk Region, 222112, Republic of Belarus Tel.: +375–29–129–01–98 E-mail: zavaley@gmail.com ORCID: https://orcid.org/0000-0002-6565-5927
Яблонская Вероника Владимировна — главный технолог, Совместное общество с ограниченной ответственностью «Ароматик» 222112, Республика Беларусь, Минская область, Дзержинск, ул. Колхозная, 1 Тел.: +375–296–30–30–67 E-mail: v_taiy@mail.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0002-7481-7534	Veranika V. Yablonskaya , Chief Technologist, Joint Limited Liability Company "Aromatic" 1, Kolkhoznaya Str, Dzherzhinsk, Minsk Region, 222112, Republic of Belarus Tel.: +375–296–30–30–67 E-mail: v_taiy@mail.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0002-7481-7534
Сапач Александр Николаевич — инженер-химик, Общество с ограниченной ответственностью «БЕЛРОСАКВА» 220118, Республика Беларусь, Минск, ул. Шаранговича, 19, офис 718 Тел.: +375–29–756–95–19 E-mail: aleksandr@belrosakva.by ORCID: https://orcid.org/0000-0002-8579-2689 * автор для контактов	Alexander N. Sapach , 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: https://orcid.org/0000-0002-8579-2689 * corresponding author
Критерии авторства	Contribution
Л. Ч. Бурак: концептуализация, разработка методологии исследования, научное руководство исследованием, проведение исследования, написание-рецензирование и редактирование рукописи; А. П. Завалей: проведение исследования, работа с программным обеспечением, проверка данных, написание и редактирование рукописи; В. В. Яблонская: анализ литературных источников по теме исследования, проведение исследования, написание и редактирование рукописи; А. Н. Сапач: проведение физико-химическим методов исследования образцов, работа с программным обеспечением, валидация, написание статьи.	L. Ch. Burak: conceptualization, development of research methodology, scientific supervision of the research, conducting the research, writing and reviewing, manuscript editing; A. P. Zavalei: conducting research, working with software, checking data, writing and editing the manuscript; V. V. Yablonskaya: analysis of literary sources on the research topic, conducting research, writing and editing the manuscript; A. N. Sapach: carrying out physical and chemical methods of studying samples, working with software, validation, writing an article.
Конфликт интересов	Conflict of interest
Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.	The authors declare no conflict of interest.

DOI: <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2025-8-1-66-72>

Поступила 15.09.2024

Поступила после рецензирования 09.03.2025

Принята в печать 14.03.2025

© Неповинных Н. В., Петрова О. Н., 2025

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

Обзорная статья

Open access

ПИЩЕВЫЕ ГИДРОКОЛЛОИДЫ: КЛАССИФИКАЦИЯ, ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ СВОЙСТВА И ПРИМЕНЕНИЕ

Неповинных Н. В., Петрова О. Н.

Саратовский государственный университет генетики, биотехнологии и инженерии имени Н.И. Вавилова, Саратов, Россия

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: АННОТАЦИЯ

биополимеры,
структура пищи,
инкапсуляция,
биопластики,
3-D печать

Пищевые гидроколлоиды — одни из наиболее востребованных ингредиентов в индустрии питания. Они выступают в роли загустителей, желирующих агентов, эмульгаторов, стабилизаторов, заменителей жиров, осветлителей, флокулянтов и пенообразователей. Кроме того, эти соединения широко применяются в аддитивных технологиях, при производстве биоразлагаемой упаковки и для инкапсуляции биологически активных, красящих веществ и ароматизаторов. В зависимости от источника получения пищевые гидроколлоиды подразделяются на четыре основные категории: гидроколлоиды растительного происхождения, гидроколлоиды животного происхождения, гидроколлоиды микробного происхождения и химически модифицированные гидроколлоиды растительного происхождения (синтетические камеди). В этом обзоре основное внимание уделяется современным тенденциям и технологическим достижениям в использовании гидроколлоидов для обеспечения необходимых потребительских свойств различных пищевых продуктов. Новые исследования показывают, что некоторые пищевые гидроколлоиды могут существенно изменить состав и структуру микробиоты кишечника и положительно повлиять на здоровье человека благодаря своим физико-химическим и структурным свойствам. Поскольку гидроколлоиды находят все более широкое применение в различных отраслях, данный обзор, посвященный их функциональности и питательной ценности в пищевых продуктах, может быть интересен исследователям при разработке инновационных технологических решений. Учитывая значительные достижения и стремительное развитие исследований в последние годы, можно прогнозировать, что изучение пищевых гидроколлоидов будет активно продолжаться. Основными направлениями станут: управление их взаимодействием с компонентами пищи, создание функциональных пищевых матриц, исследование влияния на клеточные процессы и организм в целом, а также оценка метаболизма *in vivo* и безопасности.

Received 15.09.2024

Accepted in revised 09.03.2025

Accepted for publication 14.03.2025

© Nepovinnikh N. V., Petrova O. N., 2025

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

Review article

Open access

FOOD HYDROCOLLOIDS: CLASSIFICATION, FUNCTIONAL PROPERTIES AND APPLICATIONS

Nataliia V. Nepovinnikh, Oksana N. Petrova

Saratov State University of Genetics, Biotechnology and Engineering named after N.I. Vavilov, Saratov, Russia

KEY WORDS:

biopolymers,
food structure,
encapsulation,
bioplastics, 3-D
printing

ABSTRACT

Food hydrocolloids are among the most popular ingredients in the food industry. They act as thickeners, gelling agents, emulsifiers, stabilizers, fat replacers, clarifying agents, flocculants, and foaming agents. In addition, these compounds are widely used in additive technologies, for production of biodegradable packaging and for encapsulation of biologically active substances, colorants and flavors. Depending on the source, food hydrocolloids are divided into four main categories: hydrocolloids of plant origin, hydrocolloids of animal origin, hydrocolloids of microbial origin, and chemically modified hydrocolloids of plant origin (synthetic gums). This review focuses on current trends and technological advances in the use of hydrocolloids to provide the required consumer properties of various food products. New research shows that some food hydrocolloids can significantly change the composition and structure of the intestinal microbiota and positively affect human health due to their physicochemical and structural properties. As hydrocolloids are increasingly used in various industries, this review on their functionality and nutritional value in food products may be of interest to researchers in developing innovative technological solutions. Given the significant achievements and rapid development of research in recent years, it can be predicted that the study of food hydrocolloids will be actively continued. The main areas will be: managing their interaction with food components, creating functional food matrices, studying the effect on cellular processes and the body as a whole, as well as assessing *in vivo* metabolism and safety.

1. Введение

Полезные и натуральные продукты питания пользуются растущим спросом среди заботящихся о здоровье потребителей. Продукты для здорового питания содержат в своем составе физиологически функциональные ингредиенты, к числу которых относятся и пищевые гидроколлоиды. Ожидается, что в ближайшей перспективе мировой рынок пищевых гидроколлоидов будет расти [1,2]. Лидерами среди широко используемых гидроколлоидов по-прежнему являются крахмал, желатин и пектин, на долю которых приходится около 80% от общего объема и почти 40% от общей стоимости всех коммерческих гидроколлоидов. Гидроколлоиды, получаемые из морских водорослей, каррагинан, агар и альгинаты, являются неотъемлемой частью индустрии аквакультуры и также занимают одну из

лидирующих позиций в мировой индустрии. Кроме того, новые биологически активные ингредиенты из морских водорослей привлекают интерес исследователей и инвесторов [3].

Гидроколлоиды широко изучались многими исследователями как с функциональной, так и с питательной точки зрения. Однако еще многое предстоит узнать о роли гидроколлоидов и качестве конечного продукта, изготовленного с их использованием.

Пищевые гидроколлоиды — это разнообразная группа длинноцепочечных полимеров, которые легко диспергируются, полностью или частично растворяются и набухают в воде, что, в свою очередь, способствует изменению физических свойств растворов с образованием устойчивых коллоидных систем и гелей. Большое количество гидрофильных групп заметно повышает способность гидроколлоидов

ДЛЯ ЦИТИРОВАНИЯ: Неповинных, Н. В., Петрова, О. Н. (2025). Пищевые гидроколлоиды: классификация, функциональные свойства и применение. *Пищевые системы*, 8(1), 66–72. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2025-8-1-66-72>

FOR CITATION: Nepovinnikh, N. V., Petrova, O. N. (2025). Food hydrocolloids: Classification, functional properties and applications. *Food Systems*, 8(1), 66–72. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2025-8-1-66-72>

связывать воду. Гидроколлоиды представляют собой структурно разнообразный класс полностью или частично растворимых полисахаридов. Белок желатин считается исключительным представителем этого полисахаридного класса благодаря своей превосходной гидрофильности и полидисперсности. Другие пищевые белки, такие как сывороточные, традиционно не классифицируются как гидроколлоиды, хотя их агрегационные свойства и гелеобразование в некоторой степени совпадают с характеристиками полисахаридов. Однако некоторые ученые, занимающиеся наукой о гидроколлоидах, также классифицируют сывороточные белки как гидроколлоиды [4–7].

Пищевые гидроколлоиды занимают важную часть повседневного рациона, входя в состав разнообразных продуктов питания, благодаря широкому спектру функционально-технологических свойств [8]. Одной из основных причин многогранного использования гидроколлоидов в пищевой индустрии является их способность изменять реологические характеристики и свойства пищевых матриц. С физиологической точки зрения потребление пищевых гидроколлоидов имеет много преимуществ для здоровья, которые включают в себя контроль веса, иммунную регуляцию, здоровую работу желудочно-кишечного тракта, профилактику сердечно-сосудистых заболеваний, а также контроль гликемии и инсулинемии при сахарном диабете II типа. Ряд исследований показал, что некоторые специфические гидроколлоиды могут регулировать состав кишечной микрофлоры, стимулируя рост полезных бактерий. Это приводит к повышению ферментативной активности и к выработке короткоцепочечных жирных кислот, которые оказывают существенное биологическое воздействие на организм [9,10].

Целью данного научного обзора является систематизация данных об основных характеристиках пищевых гидроколлоидов, их функционально-технологических свойствах, а также о возможных применениях при разработке пищевой продукции.

2. Объекты и методы

Объектами исследования являлись научные публикации, посвященные классификации, функциональным свойствам и применению пищевых гидроколлоидов в современных технологиях.

2.1. Методы поиска литературы

Систематический поиск научной литературы был проведен с использованием поисковых систем PubMed, Scopus, Web of Science и Google Scholar по ключевым фразам с включением операторов «и» и «или»: «food hydrocolloids», «biopolymers», «food structure», «encapsulation», «bioplastics», «3-D printing».

2.2. Критерии включения/исключения

Исследования были сгруппированы по тематическим областям обзора, статьи исключались на основании предварительного анализа названия и аннотации.

Критерии включения:

- 1) опубликованные научные статьи;
- 2) проиндексированный источник;
- 3) тематика статей — пищевые гидроколлоиды, биополимеры, структура пищи, инкапсуляция, биопластики, 3-D печать;
- 4) преимущественно зарубежные источники.

Критерии исключения:

- 1) статьи, опубликованные ранее 2000 г., за исключением общепризнанных;
- 2) тезисы докладов конференций.

3. Классификация гидроколлоидов

Согласно традиционной классификации, большинство гидроколлоидов классифицируются как полисахариды и группируются в соответствии с источником получения. Например, камедь карая, камедь трагаканта, камедь гхатти, гуммиарабик и некоторые другие камеди объединены в группу древесных экссудатов. Агар-агар, альгинат, каррагинан, фуцелларан, фукоидан относят к группе морских водорослей. Пектин относится к растительным полисахаридам, в то время как желатин и хитин включены в группу животных. Также существует группа синтетических камедей, например, ксантановая камедь, геллановая камедь, пуллулан и многие др. [4].

В Таблице 1 приведены наиболее широко используемые пищевые гидроколлоиды в соответствии с происхождением и химической структурой.

Помимо вышеупомянутой классификации, гидроколлоиды можно разделить на неионные камеди и анионные камеди. К неионным гидроколлоидам относятся ксантановая камедь, гуаровая камедь и камедь бобов рожкового дерева; в то время как к анионным гидроколлоидам относятся каррагинан, гуммиарабик, камедь карая, геллановая камедь и другие [11].

Гидроколлоиды существуют в природе в качестве структурных, накопительных или других функциональных компонентов тканей растений и животных, но лишь ограниченное их количество имеет коммерческое значение. Распространенные коммерческие гидроколлоиды включают крахмал, пектин, инулин, желатин, агар, ксантановую камедь, гуаровую камедь, каррагинан, альгинаты, камедь бобов

Таблица 1. Классификация гидроколлоидов

Table 1. Classification of hydrocolloids

Основа	Класс	Наименование гидроколлоида
Происхождение	Растительные	Пектин, инулин, гуммиарабик, камедь гхатти, камедь трагаканта, камедь карайи, камедь семян кассии, камедь семян базилика, камедь семян мескита, камедь пажитника, камедь чикле, камедь овса, камедь ржи, камедь конжака, камедь подорожника, гуаровая камедь, камедь бобов рожкового дерева, камедь льняного семени, камедь сибирской лиственницы, крахмалы
	Животные	Хитин, хитозан, желатин
	Морские водоросли	Агар, каррагинан, альгиновая кислота, альгинат, фуцелларан, ульван, фукоидан, ксилан из красной водоросли
	Микробные	Ксантановая камедь, геллановая камедь, камедь тара, декстран, пуллулан, велановая камедь, курдлан, леван
	Синтетические	Метилцеллюлоза, метилэтилцеллюлоза, карбоксиметилцеллюлоза, гидроксипропилцеллюлоза, гидроксипропилметилцеллюлоза, микрокристаллическая целлюлоза
Структура	Глюкан	Крахмал, овсяная камедь, ячменная камедь, курдлан, велановая камедь, пуллулан, декстран
	Фруктан	Инулин, леван
	Ксилан	Красная водоросль ксилан
	Рамнан	Ульван
	Галактоманнан	Гуаровая камедь, камедь бобов рожкового дерева, камедь тары, камедь семян кассии, камедь семян базилика, камедь семян мескита, камедь пажитника
	Глюкоманнан	Камедь конжака, альгинат
	Арабиноксилан	Псиллиум, льняная камедь (содержащая другую фракцию галактозанов), ржаная камедь, пшеничная камедь
	Галактан	Агар, каррагинан, фукоидан, фуцелларан
	Арабиногалактан	Гуммиарабик
	Галактуронан	Пектин
	Гликано-рамногалактуронан	Камедь карая, камедь трагакантовая (содержащая другую арабиногалактановую фракцию)
	Гликано-глюкурономанногликан	Камедь гхатти
	Полимер глюкозамина	Хитин, хитозан
	Белок	Желатин

рождкового дерева, гуммиарабик, геллановую камедь, производные целлюлозы и др. Выбор конкретного гидроколлоида для приготовления пищевого продукта зависит от его технических характеристик, а также от его цены и безопасности. Так, например, в качестве загустителей широко используются крахмалы из-за их низкой стоимости, обусловленной высоким годовым объемом производства. Однако более дорогой загуститель, такой как ксантановая камедь, также является популярным из-за его непревзойденных реологических свойств. Менее дорогими гидроколлоидами являются эксудаты растительной камеди и мука из различных семян. Многие растительные эксудаты хорошо изучены, однако в пищевой промышленности используются только гуммиарабик, камедь бобов рожкового дерева, камедь гхатти, камедь карая и камедь трагаканта. Причина в выборе данных гидроколлоидов также кроется в их доступности и безопасности. Многие эксудаты не имеют статуса GRAS, который свидетельствует о доказанной безопасности вещества в рамках его применения. Более дорогими гидроколлоидами являются экстракты морских водорослей, поскольку их сбор и сушка требуют больших затрат. Самыми дорогими являются синтетические гидроколлоиды, если они производятся с использованием дорогостоящих материалов и сложных технологий [4].

Для каждого гидроколлоида существует несколько видов сырья, из которых можно получить разные варианты. Например, агар можно получить из разных видов морских водорослей, таких как грацилярия или гелидиум. Агар из грацилярии в основном используется в пищевой промышленности, а агар из гелидиума — в бактериологии. Кроме того, внутри видов грацилярии и гелидиума выделяют подвиды, которые служат источником различных видов агара. То же самое относится к двум другим гидроколлоидам, получаемым из водорослей, альгинатам и каррагинану. В зависимости от того, в какой воде выращивались водоросли, в теплой или холодной, гидроколлоид по функционально-технологическим свойствам получается разным. В случае с альгинатом даже часть самой водоросли имеет большое значение. Альгинат, выделяемый из листьев морских водорослей, отличается от альгината, получаемого из стеблей тех же морских водорослей. Первый является в большей степени загустителем, а второй — лучшим желирующим агентом [3].

Ксантановая камедь — еще один пример гидроколлоида со множеством вариаций, традиционно получаемый путем бактериальной ферментации углеводов на основе кукурузы. Чтобы избежать контаминации ксантановой камеди, связанной с использованием ГМО-кукурузы, некоторые производители используют крахмал на основе пшеницы. Для получения различных свойств использовались даже вариации от партии к партии и отбор партий. В зависимости от температуры растворения и ионной силы растворы ксантановой камеди имеют высокую вязкость и могут принимать форму спирали или «катушки». Благодаря этим интересным свойствам ксантановая камедь используется во многих отраслях промышленности как загуститель, а также в качестве диспергирующего и стабилизирующего агента. На вязкость раствора может влиять добавление соли, которая способна увеличивать или уменьшать межмолекулярные электростатические взаимодействия [12].

Пектин бывает либо цитрусовым, либо яблочным, и каждый из них обладает разными свойствами, но его также можно производить из другого сырья, в том числе из тыквы, сахарной свеклы и семян подсолнечника. Пектин, полученный из семян подсолнечника и свеклы, чаще используется в качестве эмульгаторов, а не желирующих и стабилизирующих агентов. Цитрусовый пектин получают из трех основных цитрусовых культур: лимона, лайма и апельсина. Можно использовать и другие цитрусовые, например, мандарины и грейпфруты, но сырьевые объемы слишком малы для производителей пектина. При изготовлении различных цитрусовых пектинов большинство производителей не указывают конкретное цитрусовое сырье. Смешивание возможно либо на стадии подготовки сырья (например, совместная обработка цедры лимона, лайма и апельсина), либо после экстракции пектина из каждого вида цитрусовых отдельно [13].

В последнее время различные виды сырья и технологии постоянно исследуются на предмет извлечения пектина [14–24]. В настоящее время компания из Нидерландов проводит исследования по переработке кофейных отходов. В случае успеха эффективная переработка кофейных отходов позволит снизить себестоимость полученного из них пектина, повысив его конкурентоспособность на рынке [25].

4. Свойства гидроколлоидов

4.1. Роль гидроколлоидов в формировании структуры пищи

Гидроколлоиды используются в пищевой промышленности в зависимости от их реологических свойств. Реологические свойства — это механические характеристики, вызывающие деформацию

и текучесть материала под напряжением. Они включают два основных параметра пищевых систем: текучесть (вязкость) и механическую твердость (текстуру). Вязкость представляет собой внутреннее трение жидкости или ее тенденцию сопротивляться течению. В коллоидных суспензиях вязкость повышается за счет загущения жидкой фазы, обусловленного поглощением жидкости и возникающего в результате набухания диспергированного коллоида. Вязкость гидроколлоидной системы зависит от нескольких факторов: концентрации, температуры, степени сольватации, электрического заряда, степени дисперсности, термической и механической обработки, наличия других лиофильных коллоидов, а также электролитов и неэлектролитов. Структура — это многопараметрическое свойство, сочетающее в себе сенсорные показатели, которые определяют вкусовые качества пищи. Профили структуры пищевых продуктов включают прочность, разжевываемость, клейкость, адгезивность, когезионность, упругость и хрупкость. Структура напрямую влияет на восприятие продукта потребителями: изменения текстуры во время жевания формируют ключевые сенсорные впечатления, определяющие удовольствие от еды [26].

Все виды обработанных пищевых продуктов можно изменить по структуре путем использования разнообразных гидроколлоидов и их комбинаций, обладающих различными функционально-технологическими свойствами [4].

4.2. Загущающие свойства

Способность гидроколлоидов повышать вязкость (загущающее свойство) является ключевой для их применения в качестве эмульгирующих, стабилизирующих и вспомогательных веществ в пищевых продуктах. Загущающий эффект происходит при превышении критической концентрации (C^*), ниже которой гидроколлоидная дисперсия ведет себя как ньютоновская жидкость, но при превышении этой концентрации проявляет неньютоновское поведение [4]. Крахмал является наиболее часто используемым гидроколлоидным загустителем благодаря его доступности, относительной дешевизне, отсутствию посторонних вкуса и запаха и возможности использования в сравнительно низких концентрациях 2–5%. Широко применяемыми загустителями также являются галактотамнаны, ксантановая камедь, альгинат натрия и другие [27].

4.3. Гелеобразующие свойства

В то время как гидроколлоиды в основном используются для загущения пищевых продуктов, отдельные из них также обладают способностью формировать гели. Гель (промежуточное состояние гидратации между твердым веществом и золем) имеет непрерывную трехмерную структуру, в которой твердая матрица окружает тонко отделенную жидкую фазу и иммобилизует жидкость внутри нее, образуя прочную структуру, устойчивую к текучести. Другими словами, гель представляет собой коллоидную дисперсию, где твердая матрица является непрерывной фазой, а жидкость — прерывистой. С точки зрения реологии гель представляет собой вязкоупругую систему с модулем упругости (G'), большим, чем модуль вязкости (G''). К гелеобразующим гидроколлоидам относятся агар, альгинат, каррагинан, пектин, желатин, геллан, фуцелларан, модифицированный крахмал, метилцеллюлоза и др. В зависимости от природы гелеобразователя текстура геля может сильно различаться, от эластичного до хрупкого [4,27]. Структура такого геля легко подвергается деформации и вызывает синерезис. В практическом производстве, чтобы избежать этого явления, вместе с камедями, образующими хрупкие гели, используются другие гидроколлоиды, которые создают синергетический эффект. Например, в нашей исследовательской работе по созданию безжелатиновых маршмеллоу [28] был экспериментально показан синергетический эффект от совместного использования ксантановой камеди и галактотамнана. В отдельности эти гидроколлоиды являются превосходными загустителями, а при совместном использовании образуют термостабильный, эластичный и прочный гель [4].

4.4. Эмульгирующие свойства

При составлении эмульсионных систем обычно проводят различие между эмульгатором и стабилизатором. Эмульгатор представляет собой отдельный химический компонент (или смесь компонентов), который способствует образованию эмульсии и поддерживает эту однородную систему за счет снижения межфазного натяжения между двумя фазами. Стабилизатор — это химический компонент или смесь компонентов, которые могут придавать эмульсии долговременную стабильность. Традиционная точка зрения заключается в том, что эмульгаторы обладают гибкими молекулярными структурами, которые обеспечивают быструю адсорбцию и перестройку на границе раздела фаз, образуя когерентный макромолекулярный

защитный слой. Это означает, что гидроколлоиды не считаются классическими эмульгаторами, но относятся к стабилизаторам из-за их гидрофильности, высокой молекулярной массы и способности к гелеобразованию. Тем не менее некоторые гидроколлоиды (желатин, гуммиарабик, химически модифицированные производные крахмала и целлюлозы, галактоманнаны, ацелированный пектин из сахарной свеклы, деполимеризованный цитрусовый пектин) хорошо известны своей способностью адсорбироваться на границе раздела фаз «масло–вода» и стабилизировать эмульсии. Они замедляют осаждение дисперсных твердых частиц и слияние капель масла, снижают скорость образования масляных пленок и пены, а также предотвращают синергизм гелевых систем, содержащих масла, и агрегацию дисперсных частиц [4,29].

Некоторые пищевые гидроколлоиды обеспечивают функциональность на границе раздела фаз в эмульсиях не столько за счет адсорбции непосредственно на границе раздела «масло–вода» во время эмульгирования, сколько за счет ассоциативного взаимодействия после образования эмульсии со стабилизирующим белковым слоем. Частичное разворачивание глобулярных белков может сделать их более восприимчивыми к комплексообразованию с гидроколлоидами в адсорбированном состоянии, чем в водном растворе при том же pH и ионной силе. Обработка эмульсии, стабилизированной белком, при повышенном давлении или температуре вызывает изменения в структуре глобулярного белка. Это, в свою очередь, влияет на его взаимодействие с гидроколлоидами на поверхности капель, что существенно сказывается на стабильности и реологии системы. Таким образом, эффективным эмульгатором является такой, который (I) быстро снижает межфазное натяжение на свежееобразованной границе раздела «масло–вода», (II) прочно связывается с поверхностью раздела после адсорбции и (III) защищает вновь образованные капли от флокуляции или коалесценции [30].

5. Современные технологии в использовании гидроколлоидов

5.1. Гидроколлоиды в качестве заменителей жира

Жиры содержатся в большинстве продуктов питания, придавая им желаемый вкус, текстуру и внешний вид. Установлена взаимосвязь между избыточным потреблением жиров и рисками для здоровья, что стимулирует пищевую промышленность к созданию продуктов с пониженным содержанием жира. Продукты на основе эмульсий имеют относительно высокое содержание жира и калорий, поэтому особое внимание уделяется разработке эффективных технологических стратегий по снижению содержания жира. Тем не менее снижение содержания жира в традиционных продуктах питания ухудшает их сенсорные свойства. Следовательно, перед технологами ставится важная задача, направленная на разработку продуктов с пониженным содержанием жира, которые будут обладать вкусовыми качествами, схожими с их аналогами с высоким содержанием жира. В этой связи одним из эффективных методов является использование заменителей и аналогов жира при производстве продуктов питания [31,32].

Заменители жира на основе гидроколлоидов включают инулин, пектин, бета-глюкан ячменя, гуаровую камедь, камедь бамии, трагакантовую камедь, ксантановую камедь, каппа-каррагинан, альгинат натрия, курдлан, камедь бобов рожкового дерева и т. д. Помимо того, что некоторые гидроколлоиды являются заменителями жира, их особое достоинство заключается в том, что после гелеобразования наполненные частицы эмульсионного геля повышают общую интенсивность вкуса эмульсий с пониженным содержанием жира за счет увеличения диффузии и времени включения неполярных молекул аромата в эмульсионной системе [33].

5.2. Инкапсуляция

Инкапсуляция — это процесс, при котором активные ингредиенты или другие основные материалы помещаются в оболочку для защиты и/или последующего высвобождения. В качестве оболочки для инкапсуляции используются гидроколлоиды, поскольку они съедобны, биоразлагаемы и способны образовывать барьер между основным веществом и окружающей средой. Системы гидроколлоидной инкапсуляции включают инкапсуляцию с помощью альгината и крахмала, инкапсуляцию с помощью частиц геля сывороточного протеина и инкапсуляцию с помощью желатиновых микросфер, покрытых альгинатом. К методам инкапсуляции относятся распылительная сушка, термическое гелеобразование, ионное гелеобразование, коацервация, межфазная эмульсионная полимеризация, экструзионное покрытие, покрытие в псевдоожиженном слое, липосомальная инкапсуляция, лиофилизация, сокристаллизация и комплексообразование с включениями [34].

Инкапсуляция способствует предотвращению испарения и разрушению летучих активных веществ, таких как ароматизаторы и эфирные масла. В случае инкапсуляции ароматизаторов для этой цели обычно используется коацервация белково-гидроколлоидного комплекса. Белки с противоположными зарядами и некоторые гидроколлоиды смешиваются при pH ниже изоэлектрической точки белка, образуя комплекс (т. е. коацерват), который осаждает ароматизирующий материал в фазе коацервата. Изменение pH является ключевым фактором в данном процессе [35].

Другими возможными преимуществами инкапсуляции в пищевой промышленности могут быть контролируемое высвобождение, маскировка неприятного вкуса и неподвижность клеток или ферментов при обработке пищевых продуктов. Однако применение инкапсуляции сопряжено с рядом недостатков: дополнительные затраты, повышенная сложность технологических процессов и логистики, необходимость информирования потребителей о содержании инкапсулятов в пищевых продуктах, а также нестабильность инкапсулятов при хранении и производстве [36].

5.3. Биопластики для упаковки пищевых продуктов

Традиционные пластмассы не поддаются разложению. В связи с возросшим интересом общества к проблемам экологии, исследования все чаще направлены на поиск биопластиков и разработку биоразлагаемой пищевой упаковки с использованием гидроколлоидов [37].

Крахмал — это легкодоступный и легко разлагаемый гидроколлоид, который является важным компонентом биопластика. Для использования крахмала в пищевой упаковке необходима достаточная влажность или пластификаторы, такие как глицерин и сорбит. Эти пластифицированные крахмалы, являющиеся альтернативой полистиролу, называются термопластичными крахмалами, которые успешно применяются на промышленном уровне для экструзии, выдувания пленки, литья под давлением и выдувного формования. Например, известная британская транснациональная розничная компания Marks & Spencer Group PLC использовала лотки из кукурузного крахмала для молочного шоколада, а супермаркеты Iper (Италия) применяли кукурузный крахмал для упаковки помидоров. Целлюлоза — это еще один биоразлагаемый гидроколлоид, который может образовывать целлофановую пленку при растворении в смеси гидроксида натрия и сероуглерода, а затем преобразовываться в серную кислоту. Ряд производных целлюлозы обладают превосходными пленкообразующими свойствами, из которых ацетат целлюлозы чаще всего используется для упаковки пищевых продуктов. Кроме того, существует несколько примеров подхода к производству биопластиков с использованием гидроколлоидных композиций, таких как крахмал/целлюлоза, хитозан/желатин, хитозан/пектин, пектин/желатин, желатин/альгинат натрия, желатин/коньяк глюкоманнан и др. [38].

Гидрофильность гидроколлоидных биопластиков обуславливает низкую пароизоляцию упаковочных пленок на их основе, что снижает стабильность при хранении и ухудшает механические свойства (вследствие чувствительности к влаге). Однако, если они используются в форме геля, они могут замедлить потерю влаги при кратковременном хранении [39].

5.4. Аддитивные технологии

Аддитивное производство в форме 3D-печати в настоящее время предлагает альтернативные способы производства продуктов питания. С помощью 3D-печати можно создавать четко очерченные формы или новые структуры продуктов питания, нанося съедобные материалы послойно. Например, можно размещать отдельные компоненты рецепта в определенных местах объекта печати, и таким образом создавать новые вкусовые ощущения. Известные методы, используемые для печати продуктов питания, — это экструзия, селективное спекание, струйная печать связующим веществом и струйная печать чернилами [40].

Применение аддитивной технологии в пищевой промышленности за последние десятилетия стало очень распространенным вследствие некоторых предполагаемых преимуществ: улучшения внешнего вида изделия, пищевой ценности, вкусовых ощущений и других потребительских особенностей. Например, одним из наиболее актуальных применений остается производство персонализированных блюд, напечатанных на 3D-принтере, для людей с нарушениями жевания и глотания (например, для страдающих дисфагией, при которой каждый прием пищи может быть сопряжен с риском поперхнуться и задохнуться из-за проблем с координацией глотания или ввиду механической обструкции). Обзор последних научных публикаций показал, что 3D-печать с использованием гидроколлоидов широко используется при производстве шоколада, печенья, фруктово-овощных изделий, молочных и мясных продуктов и многих других [41–46].

Текстуру продуктов питания можно изменять на трех этапах 3D-печати методом экструзии: (I) при подготовке материала для печати (рецептура), (II) при создании дизайна путем изменения внутренних структур модели и (III) на этапах постобработки, таких как хранение или приготовление. При изменении текстуры на этапе приготовления рецептуры хорошо известно, что материал для печати должен быть текучим, чтобы его можно было экструдировать через сопло принтера, а также сохранять форму при нанесении. Распространенной практикой является добавление пищевых гидроколлоидов, улучшающих текучесть, для повышения качества печати, таких как геллановая камедь, камедь рожкового дерева, пектин, каррагинан и ксантановая камедь [47].

Как показывают новейшие технологические разработки, аддитивное производство набирает обороты по всему миру, однако препятствующим фактором для внедрения 3D-печати в качестве промышленного пищевого процесса является низкая скорость процесса, зачастую требующего нескольких часов для создания крупных форм продуктов. Для того, чтобы 3D-печать могла работать в промышленных условиях, принтеры должны стать более скоростными и достаточно дешевыми [40].

5.5. Питательные свойства гидроколлоидов

Среди населения планеты наблюдается рост хронических заболеваний, таких как сердечно-сосудистые заболевания, сахарный диабет, онкологические заболевания, что связано с чрезмерным потреблением продуктов с высоким содержанием жира и калорий. Осознание того, что именно гидроколлоиды ответственны за благотворное влияние диеты с высоким содержанием клетчатки на частоту артериальных заболеваний, привлекло внимание к исследованию их пищевой ценности [9].

Многие гидроколлоиды обладают питательными свойствами и физиологическим действием. К ним относятся β-глюкан злаков, пектин, инулин, гуммиарабик, псилиум, устойчивые крахмалы, леван, гуаровая камедь, хитозан, каррагинан и другие (Таблица 2).

Растительные полисахариды обладают различной противомикробной активностью в зависимости от структурных особенностей, таких как состав моносахаридов, молекулярная масса, степень разветвленности, химические модификации и методы экстракции. Взаимодействие между полисахаридами и бактериями происходит

посредством электростатической адсорбции, гидрофильного и гидрофобного действия или рецепторов сахара. Растительные полисахариды действуют как антибактериальное средство: они подавляют проникновение патогенных бактерий в клетки-хозяева, повышают проницаемость клеточных мембран или блокируют трансмембранный перенос питательных веществ или веществ, вырабатывающих энергию [58].

Растительные полисахариды, обладающие иммуностимулирующей активностью, могут использоваться в профилактических или терапевтических целях. Иммуностимулирующие полисахариды — это соединения, способные взаимодействовать с иммунной системой и усиливать специфические механизмы реакции организма. Иммуностимулирующая активность растительных полисахаридов тесно связана со структурой полисахарида. Согласно предыдущим исследованиям, полисахариды, такие как глюканы, фруктаны, маннаны, ксиланы, арабиногалактаны, фукоиданы, пектиновые полисахариды, галактаны и гиалуронан, обладают иммуностимулирующей активностью. За эту активность отвечают такие структурные особенности, как конформация, функциональные группы, моносахариды, молекулярная масса, состав гликозидных связей и характеристики разветвления [59].

6. Перспективы для будущих исследований

В настоящее время разработка новых продуктов питания за счет использования новых синергетических комбинаций гидроколлоидов и/или использования менее изученных природных гидроколлоидов является актуальным направлением развития гидроколлоидной отрасли [6]. При этом нередко специалисты по пищевой промышленности сталкиваются с проблемой изменения рецептуры пищевых продуктов. Цели могут быть разными: улучшение вкуса, структуры или внешнего вида продукта; создание более здоровых аналогов с увеличенным сроком хранения; снижение себестоимости за счет использования менее дорогих ингредиентов или повышение эффективности производства через внедрение новых технологий обработки.

В Таблице 3 приведены альтернативы, наиболее изученные комбинации пищевых гидроколлоидов, способствующие синергетическому эффекту, а также комбинации, которые еще предстоит изучить.

Таблица 2. Польза пищевых гидроколлоидов для здоровья человека

Table 2. Benefits of food hydrocolloids for human health

Наименование гидроколлоида	Влияние на здоровье	Библиографическая ссылка
Альгинат, гидроксипропилцеллюлоза, каррагинан, ксантановая камедь	Регулирование аппетита и чувства сытости	[48,49]
Инулин	Антидиабетическая активность	[50]
Хитин, хитозан	Аллергические реакции, вызванные арахисом	[51]
Фруктан	Стимулирование ферментации в толстом кишечнике	[52]
Конжаковый маннан, инулин, целлюлоза	Модуляция острых реакций толстой кишки	[53]
Бета-глюкан овса	Гипогликемические эффекты, повышение чувства сытости после приема пищи	[54,55]
Псиллиум	Контроль гликемии, снижение уровня глюкозы в крови	[56,57]

Таблица 3. Альтернативы пищевым гидроколлоидам и синергетические эффекты

Table 3. Alternatives to food hydrocolloids and synergetic effects

Гидроколлоиды	Альтернативы	Синергисты
Агар	Геллановая камедь / альгинат / курдлан / желатин	Неизвестно
Альгинаты (альгинат натрия)	Каррагинаны / желатин / геллановая камедь / агар / ксантан / фурцелларан	Двухвалентный ион / пектин
Каррагинан	Желатин / геллановая камедь / агар / альгинат / ксантановая камедь / фурцелларан	Казеин / хитозан / камедь бобов рожкового дерева
Хитозан	Пектины / ксантановая камедь / камедь бобов рожкового дерева / гуаровая камедь / крахмалы	Ксантановая камедь
Декстран	Гуммиарабик / ксантановая камедь	Неизвестно
Фурцелларан	Каппа-каррагина / желатин / геллановая камедь / агар / альгинат / ксантановая камедь	Казеин / кальций / хитозан / камедь бобов рожкового дерева
Геллановая камедь	Желатин / агар / альгинат / курдлан / каррагинан	Желатин / гуммиарабик
Гуммиарабик	Камедь карая / камедь гхатти / трагакантовая камеди / мальтодекстрины / метилцеллюлоза / молочные белки	Неизвестно
Гуаровая камедь	Камедь бобов рожкового дерева / камедь тары / агар / каррагинаны / декстраны / крахмалы / ксантановая камедь / желатин / альгинат	Ксантан / агар / каррагинан / анионный полимер
Микрокристаллическая целлюлоза	Продукты гидролиза крахмала / ксантановая камедь / полидекстроза	Неизвестно
Пектин	Альгинаты / каррагинаны / хитозан / ксантановая камедь / фурцелларан	Белки / поливалентные ионы

Изучая новые комбинации пищевых гидроколлоидов, исследователи должны опираться на фундаментальные концепции физической химии, науки о макромолекулах и реологии. Это позволит понять взаимосвязь свойств пищевых систем (включая дисперсии, эмульсии, пены и гели) с взаимодействиями гидроколлоидов и других пищевых ингредиентов, а также исследовать влияние гидроколлоидов на сенсорное восприятие пищи через призму трибологии и пищевого поведения.

7. Заключение

Анализ основных характеристик, функционально-технологических свойств и применения пищевых гидроколлоидов показал их широкое использование в пищевой промышленности. Гидроколлоиды применяются в качестве загустителей (соусы, дрессинги, заправки), желеобразующих веществ (пудинги, десерты, желе), ингибито-

ров синерезиса (сыры, кисломолочные напитки). Они также служат осветлителями, стабилизаторами пены (пиво, коктейли, десерты), эмульгаторами, ингибиторами кристаллизации (мороженое, щербеты, замороженные фруктовые десерты). Кроме того, гидроколлоиды используются в качестве связующих веществ, покрытий и заменителей жира (мясные, молочные продукты, шоколад).

Производство и вывод на российский рынок пищевых гидроколлоидов, полученных из отечественного сырья, является стратегически значимой задачей для обеспечения продовольственной безопасности. Кроме того, в нашей стране имеется огромный потенциал растительного сырья и образующихся отходов сельскохозяйственного производства, являющихся источником для получения различных гидроколлоидов. Таким образом, развитие новых пищевых технологий в ближайшие десятилетия будет во многом определяться прогрессом в области исследований гидроколлоидов.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК / REFERENCES

1. Мехедькин, А. А. (2021). Развитие рынка желатина и гидроколлоидов. *Управление рисками в АПК*, 4(38), 57–63. [Mekhedkin, A. A. (2021). Development of the market of gelatin and hydrocolloids *Agricultural Risk Management*, 4(38), 57–63. (In Russian)] <https://doi.org/10.53988/24136573-2020-04-05>
2. Seisun, D., Zalesny, N. (2021). Strides in food texture and hydrocolloids. *Food Hydrocolloids*, 117, Article 106575. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2020.106575>
3. Bojorges, H., López-Rubio, A., Martínez-Abad, A., José Fabra, M. (2025). Functional and bioactive properties of the protein-polysaccharide extracts from brown algae: Exploring novel functional ingredients. *Food Hydrocolloids*, 162, Article 110967. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2024.110967>
4. Phillips, G. O., Williams, P. A. (2009). *Handbook of Hydrocolloids*. Cambridge, UK: Woodhead Publishing Limited, 2009.
5. Птичкин, И. И., Птичкина, Н. М. (2012). Пищевые полисахариды: структурные уровни и функциональность. Саратов: Типография № 6, 2012. [Ptichkin, I. I., Ptichkina N.M. (2012). Food polysaccharides: Structural levels and functionality. Saratov: Printing house № 6, 2012. (In Russian)]
6. Донченко, Л. В., Сокол, Н. В., Красноселова, Е. А. (2019). Пищевая химия. Гидроколлоиды. Москва: Юрайт, 2019. [Donchenko, L. V., Sokol, N. V., Krasnoselova, E. A. (2019). Food chemistry. Hydrocolloids. Moscow: Yurayt, 2019. (In Russian)]
7. Li, J.-M., Nie, S.-P. (2013). The functional and nutritional aspects of hydrocolloids in foods. *Food Hydrocolloids*, 53, 46–61. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2015.01.035>
8. Пак, А. М., Нелюбина, Ю. В., Новиков, В. В. (2023). Природные гидроколлоиды как биосовместимые композитные материалы для пищевой промышленности. *Успехи химии*, 92(11), Статья RCR5102. [Pak, A. M., Nelyubina Yu. V., Novikov V.V. (2023). Natural hydrocolloids as biocompatible composite materials for food applications. *Russian Chemical Reviews*, 92(11), Article RCR5102. (In Russian)] <https://doi.org/10.59761/RCR5102>
9. Brownlee, I. A. (2011). The physiological roles of dietary fibre. *Food Hydrocolloids*, 25(2), 238–250. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2009.11.013>
10. Chawla, R., Patil, G. R. (2010). Soluble dietary fiber. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 9(2), 178–196. <https://doi.org/10.1111/j.1541-4337.2009.00099.x>
11. Неповинных, Н. В., Нишинари, К., Еганехзад С., Куценкова, В. С., Петрова, О. Н. (2023). Применение пищевых гелей в индустрии питания. *Известия высших учебных заведений. Пищевая технология*, 5–6(394), 118–124. [Nepovinnikh, N. V., Nishinari, K., Yeganehzad, S., Kutsenkova, V. S., Petrova, O. N. (2023). Application of food gels in the food industry. *Izvestiya Vuzov. Food Technology*, 5–6(394), 118–124. (In Russian)] <https://doi.org/10.26297/0579-3009.2023.5-6.19>
12. Garcia-Ochoa, F., Santos, V. E., Casas, J. A., Gómez, E. (2000). Xanthan gum: Production, recovery, and properties. *Biotechnology Advances*, 18(7), 549–579. [https://doi.org/10.1016/S0734-9750\(00\)00050-1](https://doi.org/10.1016/S0734-9750(00)00050-1)
13. Cui, J., Zhao, C., Feng, L., Han, Y., Du, H., Xiao, H. et al. (2021). Pectins from fruits: Relationships between extraction methods, structural characteristics, and functional properties. *Trends in Food Science and Technology*, 110, 39–54. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2021.01.077>
14. Klinchongkon, K., Khuwittjaru, P., Adachi, S. (2017). Degradation kinetics of passion fruit pectin in subcritical water. *Bioscience, Biotechnology and Biochemistry*, 81(4), 712–717. <https://doi.org/10.1080/09168451.2016.1277941>
15. Muñoz-Almagro, N., Valadez-Carmona, L., Mendiola, J. A., Ibáñez, E., Villamiel, M. (2019). Structural characterisation of pectin obtained from cacao pod husk. Comparison of conventional and subcritical water extraction. *Carbohydrate Polymers*, 217, 69–78. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2019.04.040>
16. Colodel, C., Petkowicz, C. L. de O. (2019). Acid extraction and physicochemical characterization of pectin from cubi (*Solanum sessiliflorum* D.) fruit peel. *Food Hydrocolloids*, 86, 193–200. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2018.06.013>
17. Gutöhrlein, F., Drusch, S., Schalow, S. (2020). Extraction of low methoxylated pectin from pea hulls via RSM. *Food Hydrocolloids*, 102, Article 105609. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2019.105609>
18. Sabater, C., Sabater, V., Olano, A., Montilla, A., Corzo, N. (2020). Ultrasound-assisted extraction pectin from artichoke by-products. An artificial neural network approach to pectin. *Food Hydrocolloids*, 98, Article 105238. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2019.105238>
19. Ma, X., Jing, J., Wang, J., Xu, J., Hu, Z. (2020). Extraction of low methoxyl pectin from fresh sunflower heads by subcritical water extraction. *ACS Omega*, 5(25), 15095–15104. <https://doi.org/10.1021/acsomega.0c00928>
20. Мещерякова, Г. С., Нугманов, А. Х. Х., Алексанян, И. Ю., Максименко, Ю. А., Соколова, Е. В. (2021). Диспергирование арбузных корок, как вторичного сырья, в технологиях пектиносодержащих экстрактов и пленочных структур. *Новые технологии / New technologies*, 17(5), 31–42. [Meshcheryakova, G. S., Nugmanov, A. H. H., Aleksanian, I. Yu., Maksimenko, Yu. A., Sokolova, E. V. (2021). Dispersion of watermelon rinds as secondary raw materials in technologies of pectin-containing extracts and film structures. *New Technologies*, 17(5), 31–42. (In Russian)] <https://doi.org/10.47370/2072-0920-2021-17-5-31-42>
21. Ионин, В. А., Мальяр, Ю. Н., Зимонин, Д. В., Боровкова, В. С., Захарченко, А. В., Литовка, Ю. А. и др. (2022). Оптимизация выделения пектинов из коры пихты сибирской (*Abies sibirica*), поврежденной полиграфом уссурийским (*Polygraphus proximus*). *Химия растительного сырья*, 4, 67–76. [Ionin, V. A., Malyar, Yu. N., Zimonin, D. V., Borovkova, V. S., Zaharchenko, A. V., Litovka, Yu. A. et al. (2022). Optimization of pectin extraction from the bark of siberian fir (*Abies sibirica*), corrupted by Ussuri polygraph (*Polygraphus proximus*). *Chemistry of Plant Raw Material*, 4, 67–76. (In Russian)] <https://doi.org/10.14258/jcpm.20220412027>
22. Хайтметова, С. Б., Тураев, А. С., Мухитдинов, Б. И., Халилова, Г. А. (2021). Выделение и физико-химические характеристики пектина из нетрадиционного природного сырья. *Химия растительного сырья*, 4, 75–82. [Khaytmetova, S. B., Turayev, A. S., Muhitdinov, B. I., Khalilova, G. A. (2021). Isolation and physicochemical characterization of pectin from nonconventional natural raw materials. *Chemistry of Plant Raw Material*, 4, 75–82. (In Russian)] <https://doi.org/10.14258/jcpm.2021048412>
23. Dranca, F., Oroian, M. (2018). Extraction, purification and characterization of pectin from alternative sources with potential technological applications. *Food Research International*, 113, 327–350. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2018.06.065>
24. Colodel, C., Vriesmann, L. C., Teófilo, R. F., Petkowicz, C. L. de O. (2018). Extraction of pectin from ponkan (*Citrus reticulata* Blanco cv. Ponkan) peel: Optimization and structural characterization. *International Journal of Biological Macromolecules*, 117, 385–391. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.05.048>
25. Sikqria, R. (2023). Tea and coffee waste to be composted in the Netherlands as gov adopts Green Deal. Retrieved from <https://www.packaginginsights.com/news/tea-and-coffee-waste-to-be-composted-in-the-netherlands-as-gov-adopts-green-deal.html> Accessed September 20, 2024
26. Nishinari, K., Peyron, M.-A., Yang, N., Gao, Z., Zhang, K., Fang, Y. et al. (2024). The role of texture in the palatability and food oral processing. *Food Hydrocolloids*, 147(Part A), Article 109095. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2023.109095>
27. Saha, D., Bhattacharya, S. (2010). Hydrocolloids as thickening and gelling agents in food: A critical review. *Journal of Food Science and Technology*, 6(47), 587–597. <https://doi.org/10.1007/s13197-010-0162-6>
28. Mardani, M., Yeganehzad, S., Ptichkina, N., Kodatsky, Yu., Kliukina, O., Nepovinnikh, N. et al. (2019). Study on foaming, rheological and thermal properties of gelatin-free marshmallow. *Food Hydrocolloids*, 93, 335–341. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2019.02.033>
29. Dickinson, E. (2009). Hydrocolloids as emulsifiers and emulsion stabilizers. *Food Hydrocolloids*, 23(6), 1473–1482. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2008.08.005>
30. Dickinson, E. (2018). Hydrocolloids acting as emulsifying agents — How do they do it? *Food Hydrocolloids*, 78, 2–14. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2017.01.025>
31. Cen, S., Li, S., Meng, Z. (2024) Advances of protein-based emulsion gels as fat analogues: Systematic classification, formation mechanism, and food application. *Food Research International*, 191, Article 114703. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2024.114703>
32. Sinha, S. S., Upadhyay, A., Singh, A., Mishra, S., Pandey, N. (2024). Bigels a versatile gel composite for tailored application in food industries: A review. *Food Structure*, 41, Article 100380. <https://doi.org/10.1016/j.foosr.2024>
33. Patel, A. R., Nicholson, R. A., Marangoni, A. G. (2020). Applications of fat mimetics for the replacement of saturated and hydrogenated fat in food products. *Current Opinion in Food Science*, 33, 61–68. <https://doi.org/10.1016/j.cofs.2019.12.008>
34. Weng, Y., Sun, B., Jin, W., Yan, P., Chen, X., Song, H. et al. (2024). Mechanistic study on phytase stabilization using alginate encapsulation. *Food Hydrocolloids*, 151, Article 109837. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2024.109837>
35. Bu, W., McClements, D. J., Zhang, Z., Zhang, R., Jin, Z., Chen, L. (2025). Encapsulation method of probiotic embedded delivery system and its application in food. *Food Hydrocolloids*, 159, Article 110625. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2024.110625>

36. Reque, P. M., Brandelli, A. (2021). Encapsulation of probiotics and nutraceuticals: Applications in functional food industry. *Trends in Food Science and Technology*, 114, 1–10. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2021.05.022>
37. Shlush, E., Davidovich-Pinhas, M. (2022). Bioplastics for food packaging. *Trends in Food Science and Technology*, 125, 66–80. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2022.04.026>
38. Hassan, B., Chatha, S. A. S., Hussain, A. I., Zia, K. M., Akhtar, N. (2018). Recent advances on polysaccharides, lipids and protein based edible films and coatings: A review. *International Journal of Biological Macromolecules*, 109, 1095–1107. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2017.11.097>
39. Kale, G., Kijchavengkul, T., Auras, R., Rubino, M., Selke, S. E., Singh, S. P. (2007). Compostability of bioplastic packaging materials: An overview. *Macromolecular Bioscience*, 7(3), 255–277. <https://doi.org/10.1002/mabi.200600168>
40. Guo, N., Leu, M. C. (2013). Additive manufacturing: Technology, applications and research needs. *Frontiers of Mechanical Engineering*, 8(3), 215–243. <https://doi.org/10.1007/s11465-013-0248-8>
41. Mantihal, S., Prakash, S., Godoi, F. C., Bhandari, B. (2019). Effect of additives on thermal, rheological and tribological properties of 3D printed dark chocolate. *Food Research International*, 119, 161–169. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2019.01.056>
42. Pulatsu, E., Su, J.-W., Lin, J., Lin, M. (2020). Factors affecting 3D printing and post-processing capacity of cookie dough. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 61, Article 102316. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2020.102316>
43. Kim, H. W., Lee, J. H., Park, S. M., Lee, M. H., Lee, I. W., Doh, H. S. et al. (2018). Effect of hydrocolloids on rheological properties and printability of vegetable inks for 3D food printing. *Journal of Food Science*, 12(83), 2923–2932. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.14391>
44. Le Tohic, C., O'Sullivan, J. J., Drapala, K. P., Chartrin, V., Chan, T., Morrison, A. P. et al. (2018). Effect of 3D printing on the structure and textural properties of processed cheese. *Journal of Food Engineering*, 220, 56–64. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2017.02.003>
45. Bhuiyan, Md. H. R., Yeasmen, N., Ngadi, M. (2024). Impact of hydrocolloids on 3D meat analog printing and cooking. *Food Structure*, 42, Article 100396. <https://doi.org/10.1016/j.foosr.2024.100396>
46. Dick, A., Bhandari, B., Dong, X., Prakash, S. (2020). Feasibility study of hydrocolloid incorporated 3D printed pork as dysphagia food. *Food Hydrocolloids*, 107, Article 105940. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2020.105940>
47. Pematilleke, N., Kaur, M., Wai, C. T. R., Adhikari, B., Torley, P. J. (2021). Effect of the addition of hydrocolloids on beef texture: Targeted to the needs of people with dysphagia. *Food Hydrocolloids*, 113, Article 106413. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2020.106413>
48. Jensen, M. G., Knudsen, J. C., Viereck, N., Kristensen, M., Astrup, A. (2012). Functionality of alginate based supplements for application in human appetite regulation. *Food Chemistry*, 132(2), 823–829. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.11.042>
49. Tárregaa, A., Martínezb, M., Vélez- Ruizb, J. F., Fiszman, S. (2014). Hydrocolloids as a tool for modulating the expected satiety of milk-based snacks. *Food Hydrocolloids*, 39, 51–57. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2013.12.025>
50. Liu, J., Lu, J.-F., Kan, J., Wen, X.-Y., Jin, C.-H. (2014). Synthesis, characterization and *in vitro* anti-diabetic activity of catechin grafted inulin. *International Journal of Biological Macromolecules*, 64, 76–83. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2013.11.028>
51. Bae, M.-J., Shin, H. S., Kim, E.-K., Kim, J., Shon D.-H. (2013). Oral administration of chitin and chitosan prevents peanut-induced anaphylaxis in a murine food allergy model. *International Journal of Biological Macromolecules*, 61, 164–168. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2013.06.017>
52. Belobrajdic, D. P., Jenkins, C. L. D., Bushell, R., Morell, M. K., Bird, A. R. (2012). Fructan extracts from wheat stem and barley grain stimulate large bowel fermentation in rats. *Nutrition Research*, 8(32), 599–606. <https://doi.org/10.1016/j.nutres.2012.06.009>
53. Wu, W.-T., Yang, L.-C., Chen, H.-L. (2014). Effects of konjac glucomannan, inulin and cellulose on acute colonic responses to genotoxic azoxymethane. *Food Chemistry*, 155, 304–310. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.01.065>
54. Dong, J. L., Cai, F. L., Shen, R. L., Liu, Y. Q. (2011). Hypoglycaemic effects and inhibitory effect on intestinal disaccharidases of oat beta-glucan in streptozotocin-induced diabetic mice. *Food Chemistry*, 129(3), 1066–1071. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.05.076>
55. Pentikäinen, S., Karhunen, L., Flander, L., Katina, K., Meynier, A., Aymard, P. et al. (2014). Enrichment of biscuits and juice with oat β -glucan enhances postprandial satiety. *Appetite*, 75, 150–156. <https://doi.org/10.1016/j.appet.2014.01.002>
56. Feinglos, M. N., Gibb, R. D., Ramsey, D. L., Surwit, R. S., McRorie, J. W. (2013). Psyllium improves glycemic control in patients with type-2 diabetes mellitus. *Bioactive Carbohydrates and Dietary Fibre*, 1(2), 156–161. <https://doi.org/10.1016/j.bcdf.2013.02.003>
57. Moreaux, S. J. J., Nichols, J. L., Bowman, J. G. P., Hatfield, P. G. (2011). Psyllium lowers blood glucose and insulin concentrations in horses. *Journal of Equine Veterinary Science*, 31(4), 160–165. <https://doi.org/10.1016/j.jevs.2011.02.002>
58. Chen, H., Wang, Z., Tian, J., Wang, J. (2013). Structural characterization and antioxidant properties of polysaccharides from two Schisandra fruits. *European Food Research and Technology*, 237(5), 691–701. <https://doi.org/10.1007/s00217-013-2044-4>
59. Ferreira, S. S., Passos, C. P., Madureira, P., Vilanova, M., Coimbra, M. A. (2015). Structure–function relationships of immunostimulatory polysaccharides: A review. *Carbohydrate Polymers*, 132, 378–396. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2015.05.079>

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ	AUTHOR INFORMATION
Принадлежность к организации	Affiliation
Неповинных Наталия Владимировна — доктор технических наук, доцент, профессор, кафедра технологии продуктов питания, Саратовский государственный университет генетики, биотехнологии и инженерии имени Н.И. Вавилова 410012, Саратов, проспект Петра Столыпина, здание 4, строение 3 Тел.: +7–917–209–30–94 E-mail: nnepovinnikh@yandex.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0003-2923-9202 * автор для контактов	Natalia V. Nepovinnikh, Doctor of Technical Sciences, Docent, Professor, Department of Food Technology, Saratov State University of Genetics, Biotechnology and Engineering named after N.I. Vavilov House 4, building 3, Peter Stolypin Ave, 410012, Saratov, Russia Тел.: +7–917–209–30–94 E-mail: nnepovinnikh@yandex.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0003-2923-9202 * corresponding author
Петрова Оксана Николаевна — кандидат технических наук, доцент, кафедра технологии продуктов питания, Саратовский государственный университет генетики, биотехнологии и инженерии имени Н.И. Вавилова 410012 г. Саратов, проспект Петра Столыпина, здание 4, строение 3 Тел.: +7–905–322–91–76 E-mail: oksanaklukina@yandex.ru ORCID: http://orcid.org/0000-0001-8700-9160	Oksana N. Petrova, Candidate of Technical Sciences, Docent, Department of Food Technology, Saratov State University of Genetics, Biotechnology and Engineering named after N.I. Vavilov House 4, building 3, Peter Stolypin Ave, 410012, Saratov, Russia Тел.: +7–905–322–91–76 E-mail: oksanaklukina@yandex.ru ORCID: http://orcid.org/0000-0001-8700-9160
Критерии авторства	Contribution
Неповинных Н. В.: разработка научной гипотезы, концептуализация, написание статьи; Петрова О.Н.: концептуализация, написание статьи.	Nepovinnikh N. V.: development of a scientific hypothesis, conceptualization, writing an article; Petrova O.N.: conceptualization, writing an article.
Конфликт интересов	Conflict of interest
Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.	The authors declare no conflict of interest.

DOI: <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2025-8-1-73-80>



Received 22.07.2024

Accepted in revised 13.03.2025

Accepted for publication 17.03.2025

© Revathi S., Nasser E. K., Wafaa H. H., Altemimi A. B., Sutikno S., Kartika T., Guswenrivo I., Awlqadr F. H., Abedelmaksoud T. G., 2025

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

Original scientific article

Open access

LAWSONIA INERMIS EXTRACT: ANTIBACTERIAL, ANTICANCER AND ANTIOXIDANT PROPERTIES

Seemaisamy Revathi¹, Elham K. Nasser², H. Khassaf Wafaa³, Ammar B. Altemimi²,
Sutikno Sutikno¹, Titik Kartika¹, Ikhsan Guswenrivo¹, Farhang H. Awlqadr⁴, Tarek Gamal Abedelmaksoud^{5*}

¹Research Center for Applied Zoology, Research Organization for Life Science and Environment,
National Research and Innovation Agency (BRIN), Bogor, Indonesia

²Department of Food Science, College of Agriculture, University of Basrah, Basrah Iraq

³Date Palm Research Centre, University of Basrah, Iraq

⁴Food Science and Quality Control, Halabja Technical College, Sulaimani Polytechnic University, Sulaymaniyah, Iraq

⁵Food Science Department, Faculty of Agriculture, Cairo University, Giza, Egypt

KEY WORDS:

herbal medicine,
bioactive compounds,
oxidative stress,
cytotoxic effects,
natural product
research,
phytochemical
screening

ABSTRACT

Henna, scientifically known as *Lawsonia inermis*, is long used for its therapeutic benefits in several civilisations. This study examines the antibacterial, anticancer, and antioxidant properties of the leaf extract from *L. inermis*. The phytochemical study indicated the existence of alkaloids, flavonoids, glycosides, phenolic compounds, and tannins. GC–Mass Spectrometry detected notable bioactive chemicals, including tetracosamethyl-cyclododecasiloxane and cyclohexasiloxane. The extracts demonstrated strong antioxidant properties, as evidenced by their values of 254.32 and 121.25%, as well as their high FRAP values, demonstrating their effective ability to scavenge radicals. The antibacterial effectiveness, assessed by the disc-diffusion technique, demonstrated substantial inhibition zones against both Gram positive and Gram-negative microorganisms. The MTT experiment exhibited significant anticancer efficacy against MCF-7 breast cancer cell lines, with an IC₅₀ value of 1.682 µg/mL. The results indicate that extracts from *L. inermis* contain significant bioactive substances that have the potential to be utilised in the development of innovative medications aimed at addressing oxidative stress, bacterial infections, and cancer.

Поступила 21.07.2024

Поступила после рецензирования 13.03.2025

Принята в печать 17.03.2025

© Ревати С., Нассер Э. К., Вафаа Х. Х., Алтемими А. Б., Сутикно С.,
Картика Т., Гусвенриво И., Авлкадр Ф. Х., Абедельмаксуд Т. Г., 2025

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

Научная статья

Open access

ЭКСТРАКТ ЛАВСОНИИ ОБЫКНОВЕННОЙ: АНТИБАКТЕРИАЛЬНЫЕ, ПРОТИВОРАКОВЫЕ И АНТИОКСИДАНТНЫЕ СВОЙСТВА

Ревати С.¹, Нассер, Э. К.², Вафаа Х. Хассаф³, Алтемими А. Б., Сутикно С.¹,
Картика Т.¹, Гусвенриво И.¹, Авлкадр Ф. Х.⁴, Абедельмаксуд Т. Г.^{5*}

¹Исследовательский центр прикладной зоологии, Научно-исследовательская организация в области наук
о жизни и окружающей среде, Национальное агентство исследований и инноваций (BRIN), Богор, Индонезия

²Кафедра пищевых наук, Сельскохозяйственный колледж, Университет Басры, Басра, Ирак

³Исследовательский центр финиковой пальмы, Университет Басры, Ирак

⁴Технический колледж прикладных наук Халабджи, Исследовательский центр Халабджи,
Сулейманский политехнический университет Сулеймания, Ирак

⁵Кафедра пищевых наук, Сельскохозяйственный факультет, Каирский университет, Гиза, Египет

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: АННОТАЦИЯ

фитотерапия,
биологически
активные соединения,
окислительный
стресс,
цитотоксические
эффекты,
исследование
природного продукта,
фитохимический
скрининг

Хна (хенна), известная в науке как *Lawsonia inermis*, уже давно применяется во многих цивилизациях благодаря своим лечебным свойствам. В исследовании изучены антибактериальные, противораковые и антиоксидантные свойства экстракта листьев *L. inermis*. Фитохимическое исследование растения показало наличие алкалоидов, флавоноидов, гликозидов, фенольных соединений и танинов. С помощью ГХ–масс-спектрометрии были обнаружены биологически активные химические вещества, в том числе тетракозаметил-циклододекасилоксан и циклогексасилоксан. Экстракты продемонстрировали сильные антиоксидантные свойства, о чем свидетельствуют уровни их содержания — 254,32 и 121,25%, а также их высокие значения восстановления флуоресценции после фотообесцвечивания (FRAP), демонстрирующие их эффективную способность захватывать радикалы. Антибактериальная эффективность, оцененная с помощью диско-диффузионного метода, продемонстрировала весьма крупные зоны ингибирования роста как грамположительных, так и грамотрицательных микроорганизмов. Анализ с МТТ показал значительную противораковую эффективность против линий клеток рака груди MCF-7 со значением IC₅₀ 1,682 мкг/мл. Результаты показывают, что экстракты *L. inermis* содержат значительные биоактивные вещества, которые могут быть использованы при разработке инновационных лекарств, направленных на борьбу с окислительным стрессом, бактериальными инфекциями и раком.

1. Introduction

Plants have long been utilized in traditional herbal medicine. Consequently, plants are currently acknowledged as an inherent source of potent novel antibacterial chemicals. Medicinal plants are used as ethno-medicine in several cultures worldwide due to their abundant and diverse

medical effects. Additionally, they serve as a reservoir of natural chemicals that offer limitless potential for innovative pharmaceuticals [1]. Plants have been used in traditional herbal treatment for numerous years. Plants have been discovered to naturally produce powerful new antibacterial compounds. Medicinal plants are utilized as ethno-medicine

FOR CITATION: Revathi, S., Nasser, E. K., Wafaa, H. H., Altemimi, A. B., Sutikno, S., Kartika, T. et al. (2025). *Lawsonia inermis* extract: Antibacterial, anticancer and antioxidant properties. *Food Systems*, 8(1), 73–80. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2025-8-1-73-80>

ДЛЯ ЦИТИРОВАНИЯ: Ревати, С., Нассер, Э. К., Вафаа, Х. Х., Алтемими, А. Б., Сутикно, С., Картика, Т. и др. (2025). Экстракт лавсонии обыкновенной: антибактериальные, противораковые и антиоксидантные свойства. *Пищевые системы*, 8(1), 73–80. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2025-8-1-73-80>

in several countries worldwide due to their abundant and easily accessible therapeutic properties. Moreover, they offer an abundance of natural compounds that have the potential to be utilized in the development of numerous novel pharmaceuticals [1,2,3]. This well-known plant, sometimes known as "henna", is found in tropical regions of North Africa and South East Asia. Native to tropical and subtropical areas of the world, including as South Asia, Africa, the Sahara Desert, and even parts of northern Australia, the five-meter-tall blooming plant is known as henna. The leaves of the henna plant are sub sessile, smooth, oval-shaped, entire, and opposite. The leaves have proportions of 1–2 cm in width and 2–3 cm in length. The henna shrub has densely branched stalk, greyish-brown bark. People have used this plant for its herbal medicinal properties and cosmetic effects for years. Henna is the plant of medicinal importance, which provides significant biological effects both *in vitro* and *in vivo*. This plant has long been utilized in traditional oriental medical systems to treat a variety of ailments, including headaches, leprosy, and some skin issues. Henna was once used to treat hair to prevent dandruff and lice as well as to shield the hands and feet from fungal illnesses. Other traditional usage includes treating rheumatoid arthritis, headaches, ulcers, diarrhea, jaundice, leprosy, fever, enlarged spleen, diabetes, and other ailments. Again, it has astringent, antimicrobial, and antihemorrhagic qualities. It is also widely known for having cardiac inhibitory, hypertensive, and sedative properties [4]. Antioxidants are the compounds that have the ability to shield cells from the harmful effects of free radicals, which can cause oxidative damage. Natural products have exhibited high antioxidant action, potentially enhancing individuals' well-being. The pursuit of naturally occurring antioxidants with pharmacological importance has led to extensive research of numerous plant species and their active components. Researching medicinal plants entails more than just determining potential therapeutic applications. To optimize the use of medicinal plants with potential antioxidant activity and discover the qualities linked with them, many aspects of these plants require thorough investigation. Using phytochemical screening, a wide range of chemicals have been found from various parts of *L. inermis*, including coumarin, fatty acids, amino acids, phenolic compounds, terpenoids, sterols, tannins, xanthenes, and derivatives of naphthoquinone. *L. inermis* leaf extracts show anti-proliferative effects against MCF-7 human breast cancer. Thus, in this work, we assessed the cytotoxic, antioxidant, and antibacterial qualities of the aqueous extract of *L. inermis* leaves.

2. Material and methods

2.1. Plant materials

Microorganisms, nutrient-rich substances, and chemical compounds were used for the research. The materials were obtained from Merck Co. (Darmstadt, Germany) include DPPH, ABTS, folin ciocalteu reagent, gallic acid, potassium persulfate $K_2S_2O_8$, and dimethyl sulfoxide (DMSO). The microbiological strains obtained from IMTECH, India, were used to isolate gram (negative and positive) bacteria, specifically *Pseudomonas putida* with strain number MTCC1194, *E. coli* MTCC1302, *K. pneumoniae* MTCC4727, and *S. marcescens* MTCC4822. The gram-positive bacterial strains comprised of *S. aureus* MTCC737, *B. subtilis* MTCC441, *B. megaterium* MTCC441, *B. cereus* MTCC6840, and *B. aryabhattai* MTCC14579. We purchased nutrient agar (NA), Mueller Hinton Broth (MHB) to use it as high-purity media.

2.2. Preparation of extract of *L. inermis*

To make the extract the plants of *L. inermis* were taken, 100 g of leaves were weighed separately and kept in a Soxhlet device for around 6 hours. The various chemical components were isolated using a variety of solvents, such as petroleum ether, chloroform, acetone, methanol, ethanol, and water, according to their polarity. The components were then selected for their antibacterial qualities. The extracts of *L. inermis* obtained with acetone and methanol proved them to be the most successful solvents among others. Bennour et al. [5] stated that the extract solvents were chilled for future using, after being evaporated with a Rota-evaporator 2198-H (Buchi T, India).

2.3. Initial phytochemical analysis

The initial phytochemical screening tests were performed using acknowledged methodologies to identify useful constituents, including alkaloids, terpenoids, glycosides, quinones, cardiac glycosides, coumarins, phlobatannins, anthraquinones, and phenols [6].

2.3.1. Inoculum development

Using both NA and MHB culture media, a stock culture of pathogenic bacteria was prepared. Strains of *Staphylococcus*, *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas*, and *Escherichia coli* were cultured on agar slants for 24 hours

at 37 °C using their original culture media. After incubation the cultures were maintained at 4 °C [7]. All of the analytical grade compounds were purchased from Sigma-Aldrich.

2.3.2. Preparation of plant extract

Making the leaf extract from *Lawsonia inermis* (henna). The henna plant, *Lawsonia inermis*, was taken from its natural habitat. We acquired fresh *Lawsonia inermis* (henna) leaves from the Science Campus of Alagappa University in Karaikudi, Tamil Nadu, India. The experimental field investigation was carried out in accordance with all applicable institutional policies and standards. The plant leaf was first prepared by washing, drying in the shade at the right temperature and humidity levels, and then were ground in a lab mill laboratory knife mill HM100 (STERICOX, India). The plant was then submerged at certain proportion (1:10 ratio; w/v) in water for one day at the temperature of the laboratory (approximately 30 °C), while being stirred as part of the maceration process. To remove the extract from the plant, filter paper was used and Rota-evaporator 2198-H (Buchi T, India). Benchtop High-Speed Centrifuge (TG24-WS, China) was used for the evaporation and centrifugation processes. The remaining sample was stored at 4 °C for subsequent analysis [8].

2.3.3. Purification of crude extract by column chromatography

For column chromatography, silica gel with particle sizes ranging from 100 to 200 μ m was chosen. For packing the column, the silica gel was suspended in petroleum ether. A 40-centimeter corning glass tube with an internal diameter of 2.5 centimeters and a glass stopper at the bottom made up the column. To create a continuous column free of air bubbles, the washed silica gel suspension was progressively added to the tube's lower end, which held an attached disk. The column's ultimate dimensions were 25 by 2.5 cm. Methanol was used to equilibrate the column. Samples of volume up to 5 ml were run through the column at a flow rate of 0.2 ml/min using a gradient solvent solution made up of 9:1, 7:3, and 1:1 ratios of ethanol to chloroform. Ultimately, methanol was used to wash the column. Ten milliliters fractions from each solvent system were collected, and the homogeneity of each individual fraction was examined using thin layer chromatography (TLC). Iodine vapors were used to detect colorless compounds in the chromatograms, whereas colored spots were detected visually. Fractions with comparable R_f values were combined, and at 450 °C, they were evaporated to dryness under low pressure. Using the test pathogenic organisms, antimicrobial researches were conducted on all the pooled fractions.

2.4. Characterization with thin layer chromatography (TLC)

Following the collection of the extract, thin layer chromatography was used to ascertain its level of purity. The specimen was applied onto the plate coated with silica using capillary tubes, left to dry, and then the plates were subjected to development using the solvent mobile phase for duration of 30 minutes, applying a 1:1 ratio of ethanol to chloroform. With UV transilluminator, the obtained plates were inspected, and the retention factor was calculated using the subsequent formula:

$$RF \text{ value} = D.T. \text{ solution} / D.T. \text{ solvent} \quad (1)$$

D.T. = Distance travelled.

2.5. Functional group analysis by FTIR

The sample was analysed using an FTIR spectrophotometer (FTIR8200 Affinity-1, Shimadzu Kyoto, Japan) to obtain the FTIR spectra. The analysis was conducted at the temperature in the laboratory (approximately 30 °C) and covered the range of 400–4000 cm^{-1} [8].

2.6. GC–MS analysis

The solvent extract underwent analysis using GC–MS spectrometry using a column that had the properties (film thickness = 0.25 μ m, inner diameter (ID) = 0.25 mm. Length = 30 m). The analysis was performed using a Quadrapole spectrometer (Omni Star® GSD350 O, ultra-high vacuum Prisma Pro, Germany). In order to perform the analysis, a volume of 1 μ l of the sample was introduced into helium gas of high purity at rate of 1 ml/min and the split ratio 20:1. The reaction was conducted with an ionization energy of 70 eV. The temperature of the injector column was initially maintained at 25 °C for 3 minutes, then increased at 10 °C/min gradually until it reached 280 °C, where it was held for three minutes. Finally, the temperature was maintained at 300 °C for 10 minutes. The obtained compounds were identified by matching their spectral configuration with the public NIST library database.

2.7. Antioxidant activity

2.7.1. DPPH test

The antioxidant activity of the extract was assessed using the approach outlined by Altemimi et al. [9] and Abedelmaksoud et al. [10]. Following the preparation of a methanolic solution with a concentration of

1 mg/ml, the extract was further diluted to a concentration range of 10–500 µg/mL. 1 ml of each concentration of the extract was combined with 1 mL of methanol and 2 mg of DPPH. The extract and control samples, which included all reaction components except the extract, were kept in darkness at a temperature of 24 °C for 30 minutes. The samples were observed UV-visible spectrophotometer Unico UV-2000 (Dayton, NJ, USA) at a wavelength of 517 nm [10]. The subsequent equation was used to ascertain the level of antioxidant activity:

$$I\% = A_{\text{blank}} - A_{\text{sample}} / A_{\text{blank}} \times 100. \quad (2)$$

" A_{sample} " and " A_{blank} " denote the extract and the blank sample absorption, respectively. The IC_{50} value was used to compare the extract's antioxidant activity to vitamin C and tertiary-butylhydroquinone (TBHQ) [9]. The IC_{50} was calculated using the radical scavenging activity (RSA) curve slope equation. The sample concentration that inhibits 50% of free radicals is the IC_{50} .

2.7.2. ABTS test

The extract was tested for ABTS radical inhibition using the Labiad et al. method [11]. Vitamin C and TBHQ were the reference standards. A solution of free radicals (7 mM ABTS, 2.4 mM potassium persulphate) was maintained at 24 °C without light for 14 hours. After adding 200 µL (10–500 µg/mL) of extract samples, the free radical solution (2 mL) was thoroughly mixed. Samples were analysed at 734 nm (UV-visible spectrophotometer Unico UV-2000, Dayton, NJ, USA) for 30 minutes. The IC_{50} test assessed ABTS free radical scavenging [11].

2.7.3. FRAP test

The FRAP assay measured extract's antioxidant capacity. A solution was made by mixing the extract with 0.2 M phosphate buffer (2.5 mL; pH 6.6) and potassium ferricyanide (2.5 mL; 1% w/v). The sample then was incubated at 50 °C for 20 minutes. 2.5 mL of 10% w/v trichloroacetic acid solution was added and centrifuged at 1000×g for 10 minutes to stop the reaction. The sample's 700 nm absorbance (UV-visible spectrophotometer Unico UV-2000, Dayton, NJ, USA) was measured 30 minutes after combining of 2.5 mL of supernatant, 2.5 mL of deionised water, and 0.5 mL of 0.1% chloride. FRAP was calculated using mg AAE/g extract. Vitamin C and TBHQ were the positive controls [11].

2.8. Cytotoxicity studies

Bahuguna et al. [12] conducted an experiment using the MTT assay (A. Type and C. Collection 2011) to determine the antiproliferative effect of tetracosamethyl-cyclododecasiloxane extracts from leaves of *L. inermis* on MCF-7 cell lines, which are human breast cancer cells. The MCF-7 cells, obtained from NCCS in Pune, India, were grown at a temperature of 37 °C in DMEM medium. The medium was supplemented with 10% FBS and 1% antibiotics (100 U·mL⁻¹ of penicillin and 100 µg·mL⁻¹ of streptomycin). The cells were cultured in a humid environment with 5% CO₂. The Trypsin-EDTA solution was used to isolate the individual cells, and a quantity of 5,000 cells per well was used for subculturing. Once the cell culture reached 50% confluence, it was treated with 20 µg of plant extract, which was diluted in 20 µL of DMSO. The cells were then incubated in a CO₂ incubator at 37 °C for 24 hours. Subsequently, the medium was extracted. Finally, the samples were subjected to incubation for three hours with a concentration of 4 mg·mL⁻¹. An ordinary microplate reader was employed to measure the absorbance at a wavelength of 540 nm (Reader, Plate Reader manufacturers & OEM manufacturers in India). Cytotoxicity was assessed by measuring cell viability as a percentage. The average value of three replicated experiments is shown to represent the findings. The following is the equation used to determine cell viability:

$$\text{Percent of cells viability} = \frac{\text{Absorbance of treated cells}}{\text{Absorbance of control cells}} \times 100\%. \quad (3)$$

2.9. The minimum concentration of inhibitory or bactericidal activity

The minimum inhibitory concentration (MIC) of plant extract was determined through broth microdilution method technique following CLSI guidelines. The MHB was used to create a primary culture of pathogenic bacteria at 1.5 × 10⁸ CFU/ml. The DMSO-containing extract was diluted to 1 mg/ml. Extract was poured into 96-well plates with capacity of 125 µl per each well. Into each well, bacteria were added. The plate was placed into a 37 °C incubator for 24 hours. To assess bacterial multiplication, 25 µl of triphenyltetrazolium chloride (5 mg/mL) was added to each well, that resulted in a dark red colour. At the lowest extractable concentration (MIC), no colour change was detected. Each well (100 µl) with no colour change was cultured on MHA at 37 °C for 24 hours. The minimum bactericidal concentration (MBC) was the dilution that fully stopped growth [13].

2.10. Statistical analysis

SPSS was used to perform a one-way analysis of variance (ANOVA), followed by Tukey's Honestly Significant Difference (HSD) multiple comparison test to determine significant differences at $P \leq 0.05$.

3. Results and discussion

3.1. Initial phytochemical analysis

Lawsonia inermis leaf (Figure1) extracts prepared using petroleum ether, chloroform, ethyl acetate, and ethanol showed the presence of phytochemicals such as alkaloids, flavonoids, glycosides, saponins, sterols, tannins, proteins. According to the initial phytochemical analysis, Table 1 shows composition of the *Lawsonia inermis* leaf extract by GC-MS. The GC-MS analysis of *Lawsonia inermis* leaf extract identified a diverse range of bioactive compounds, primarily consisting of hydrocarbons, siloxanes, alcohols, and phenolic derivatives. Among the detected compounds, high molecular weight siloxanes, such as cyclo-decasiloxane eicosamethyl (740% area) and octasiloxane hexadecamethyl (578% area), were predominant, suggesting their significant contribution to the extract's chemical profile. Other notable siloxane derivatives, including cyclododecasiloxane dodecamethyl (444% area) and cyclononasiloxane octadecamethyl, also appeared in considerable proportions. In addition, hydrocarbons like eicosane (282.54% area), nonadecanol-1 (284.52% area), and 1-dodecanol (186.33% area) were present, potentially providing an effect on the extract's hydrophobic properties and biological activities. Phenolic compounds, such as phenol 2,4-bis(1,1-dimethyl ethyl), known for their antioxidant potential, were also detected.



Figure 1. *Lawsonia inermis* leaves sample
Рисунок 1. Образец листьев растения *Lawsonia inermis*

Table 1. Composition of the *Lawsonia inermis* leaves extract by GC-MS
Таблица 1. Состав экстракта листьев *Lawsonia inermis* согласно данным ГХ-МС

Compound name	Formula	% area	Retention time
9-eicosene	C ₂₀ H ₄₀	1.01	26.694
Nonadecene	C ₁₉ H ₃₈	0.68	28.88
Cyclododecasiloxanedodecamethyl	C ₁₂ H ₃₆ O ₆ Si ₆	1.37	9.46
Cyclodecasiloxane, eicosamethyl	C ₂₀ H ₆₀ O ₁₀ Si ₁₀	2.01	11.3
Hexacosene	C ₂₆ H ₅₄	0.11	19.08
9-eicosene	C ₂₀ H ₄₀	1.01	25.50
Dodecane	C ₁₂ H ₂₆	170.34	0.339
Eicosane	C ₂₀ H ₄₂	282.54	0.250
1-dodecanol	C ₂₀ H ₄₂ O	186.33	0.676
Phenol,2,4-bis (1,1-dimethyl ethyl)	C ₁₄ H ₂₂ O	206.32	1.115
Nonadecanol-1	C ₁₉ H ₄₀ O	284.52	7.956
Hexadene	C ₁₆ H ₃₄	226.44	0.806
Octodecanoic acid, 9,10-dichloro-methyl ester	C ₁₉ H ₃₆ Cl ₂ O ₂	367.40	4.166
Cyclo-decasiloxane eicosamethyl	C ₂₀ H ₆₀ O ₁₀ Si ₁₀	740	1.65
Octasiloxane1,1,3,3,5,5,7,7,9,9,11,11,13,13,15,15 hexadecamethyl	C ₁₆ H ₅₀ O ₇ Si ₈	578	1.90
Cyclododecasiloxanedodecamethyl	C ₁₂ H ₃₆ O ₆ Si ₆	444	2.61
Cyclononasiloxane, octadecamethyl-	C ₁₈ H ₅₄ O ₉ Si ₉		1.75

The presence of octadecanoic acid, 9,10-dichloro-methyl ester, suggests possible antimicrobial or cytotoxic activity. Overall, the chemical composition of *L. inermis* extract, as revealed by GC–MS, highlights its complex phytochemical nature, which may contribute to its antibacterial, antioxidant, and anticancer properties.

3.2. GC–MS analysis

Using TLC analysis, the extract was partially purified. The extract that had been partially purified, underwent GC–MS analysis, and the NIST library was referred to in order to define a chemical profile. Based on the spectral values of the mass spectrometry data shown in Figure 2, the molecular weight was also determined. Fatty acids, esters, alkenes, and acidic chemicals were detected in the fractions after the chloroform, methanol extract was subjected to GC–MS analysis. Active chemicals were present as it was indicated by 23 peaks. The compounds that provided the greatest antibacterial and anticancer effect were dodecene (1.6%), eicosene (0.2%), tetradecene (0.9%), cyclodecasiloxaneicosamethyl (1.37%), and eptasiloxasanehexadecamethyl (0.351%). Additionally, 23 active metabolic peaks were detected in the GC–MS data at different retention times. The results showed that tetracosamethyl-cyclododecasiloxane is one of the physiologically active compounds with hepatoprotective activity, while cyclohexasiloxane, or dodecamethyl, is widely used as a lubricant, de-foaming agent, conditioning agent, and personal care product. This was verified by Ghribi et al. [14]. Using (GC–MS) to analyse the crude extract of the reported species, numerous significant organic volatile components were found. Therefore, the current study aligns with the findings of Plaza and Haarich [15]. Effective anti-arthritic, anti-acne, and anti-androgenic properties are present in the fatty acid ester group. When compared to phytochemicals derived from plants, Maheswari and Saraswathy found that ethyl acetate extract of alkene compounds, derived from bacillus, featured pharmacological activity. Additionally, different compounds derived from actinomycete and streptomycete demonstrated biological activity [16].

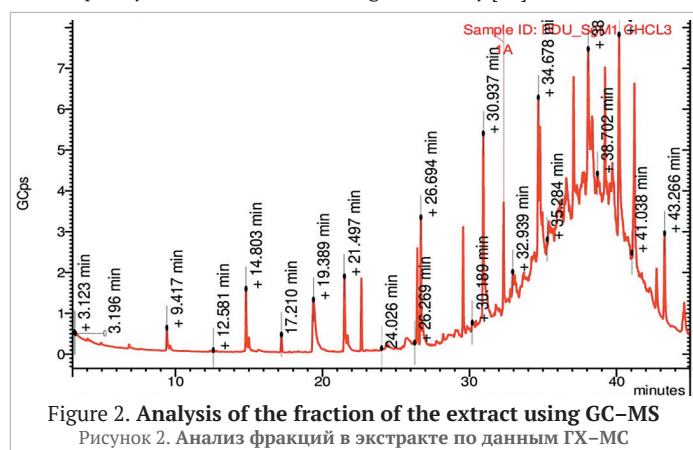


Figure 2. Analysis of the fraction of the extract using GC–MS
Рисунок 2. Анализ фракций в экстракте по данным ГХ–МС

3.3. FTIR

The wave range, that was recorded and shown in Figure 3, consisted of nine functional groups: 3361.00, 2928.84, 2161.79, 1637.12, 1557.12, 1405.07, 1271.01, 1069.07, 799.13, and 648.65 cm^{-1} . Furthermore, a functional group identified as fatty acids, alkenes, amino groups, volatile oils,

hydrocarbons, and fatty acid esters was found within the unknown wave range of 2161.79. The active compound's functional groups of FTIR groups that include 648.85 and 799.13 fatty acids, respectively C–O stretch, ester, carboxylic acids, C–H–CH₂, at 1069.07 C=N stretches of aliphatic amines, 1405.07 C=O symmetric stretch of fatty acids and COO-amino acids, at 1557.12 aromatic C–C ring, at 1637.12 amide I of β -pleated sheet stretch, at 2161.79 there was unknown chemical, at 2928.84 there was C–H stretch of CH₂, at 3361.00 N–H, O–H vibration. The functional group was then established by FTIR analysis which was shown by active molecules like carboxyl, hydroxyl and amino acid, alkenes, hydrocarbons profile at 3361, 2928, 2161, 1637, 1557, 1405, 1271, 799, 648 (cm^{-1}) at various retention time the comparison. This was confirmed by several reports that shown the lipopeptide functional characterization [17].

3.3.1. Purification of crude extract by column chromatography

Using several solvent systems, we have shown for the first time that henna's colour is a combination of four components. Petroleum ether, ethanol, ethyl acetate, and chloroform were used as the solvents. After the fractions were collected and rinsed with color fractions, thin layer chromatography was used to further characterize them.

3.4. TLC analysis

The ethanol and chloroform (30:70) solvent solution was chosen based on the polarity of the active ingredient. The metabolites were observed on an analytical TLC plate, which was subjected to examination in an iodine and UV chamber. The findings revealed a single spot on the plate, with an R_f value of 0.96 and 0.68. The area displayed a blue hue when exposed to UV light and an iodine chamber. For additional examination, the active component was described.

3.5. Antioxidant potential

The ABST and DPPH radical scavenging activity and FRAP assay were used to assess the antioxidant capability of the *L. inermis* extract. The extract's antioxidant activity, natural antioxidant properties of the compounds such as vitamin C, and synthetic antioxidant properties TBHQ were all shown in the DPPH technique graph. Vitamin C, TBHQ, and extract samples had DPPH radical scavenging activity (% inhibition) values of 112.45, 75.12, and 254.32%, respectively. This suggests that antioxidant activity of the extract is greater than TBHQ and vitamin C, in that order. The extract's antioxidant activity dramatically increased ($p < 0.05$) as its concentration rose. The antioxidant activity of the control samples did not differ significantly ($p < 0.05$), although they did differ from the main sample. Table 2 displays the findings from the assessment of antioxidant activity using ABTS free radical scavenging effect. The sample's antioxidant activity grew significantly along with its concentration, suggesting a clear direct correlation between the extract's concentration and scavenging activity. Furthermore, compared to the plant extract, vitamin C and TBHQ had far less antioxidant activity. Vitamin C, extract, and TBHQ samples had values of 77.35, 54.21 and 121.25%, respectively. This suggests that the extract antioxidant activity is not greater than that of TBHQ and vitamin C, respectively. Additionally, the FRAP approach was applied, and Table 3 displays the results. The range of FRAP values for the extract, vitamin C, and TBHQ samples were 245.23, 65.23, and 454%, respectively. This antioxidant activity attributed to phenolic chemicals, which bind redoxactive metal ions and prevent hydroperoxides from becoming reactive oxyradicals, turning them to antioxidants. Interrupting

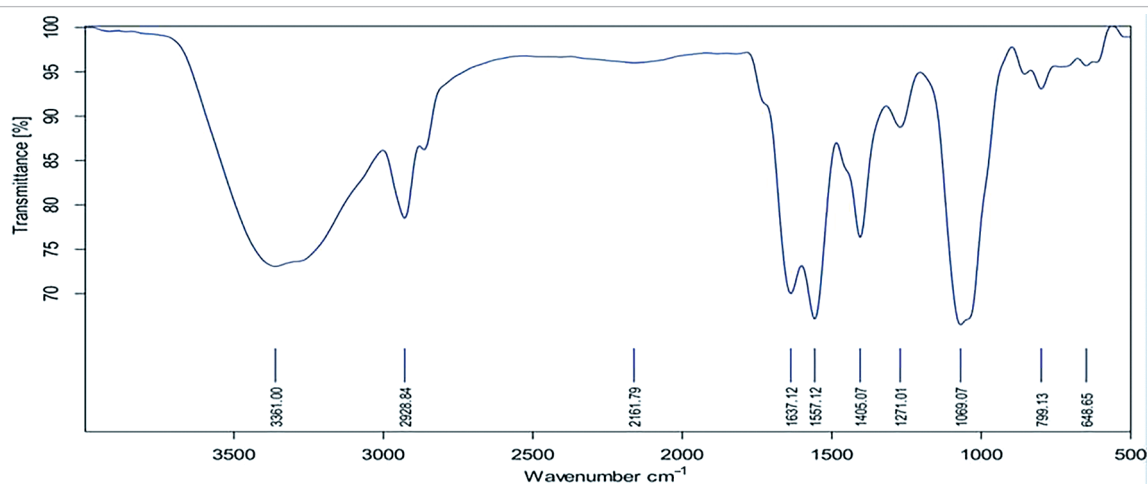


Figure 3. The active molecules functional groups of isolated compounds
Рисунок 3. Функциональные группы активных молекул в выделенных соединениях

chain reactions prevents free radical inactivation. Flavonoids form metal ion complexes to remove free radicals [18]. According to research, the leaf and skin extracts of *L. inermis*, prepared with solvent, had a total phenolic content (TPC) ranging from 20 to around 100 mg GAE/g of dry weight, and total flavonoid content (TFC) ranging from 18 to 92 mg of catechin equivalent/g of dry weight [19]. The total phenolic content (TPC) and total flavonoid content (TFC) of the *L. inermis* extract were determined to be moderately comparable to extracts from other plants, such as the *Ferula angulata* used methanol extract method (TPC around 72 mg GAE/g, TFC around 30–35 mg QE/g) and *Tymus satureioides* used the hexane extract (TPC around 98 mg GAE/g, TFC around 92mg QE/g) [20]. In the other study by Gholamshahi and Salehi Sardoei [21] documented varying total phenolic content (TPC) values for various components of the plant, with the leaf exhibiting the highest TPC value of around 9–10 mg GAE/g of dry weight. Several variables might influence the quantity of TPC and TFC (Total Flavonoid Content), such as the extraction technique, the kind of solvent used for extraction, meteorological conditions, the growing method, the type of plant, and the specific plant sections [22]. High concentrations of biological molecules, such as phenolic compounds and flavonoids, offer significant industrial and therapeutic advantages. They facilitate the mass production of these plants, thus enhancing the competitiveness of agricultural enterprises [23]. Al-Rowaily et al. conducted a study that revealed a significant concentration of carotenoids in the extract of *Lawsonia inermis* [24].

Table 2. Free radical scavenging activity of vitamin C, TBHQ, and purified compound

Таблица 2. Активность захвата свободных радикалов витамином C, TBHQ и очищенным соединением

Free radical scavenging activity	Vitamin C	TBHQ	Purified compound
DPPH radical scavenging activity (% inhibition)	112.45 ± 2.23 ^b	75.12 ± 2.21 ^a	254.32 ± 1.31 ^b
ABTS radical scavenging activity (%)	77.35 ± 2.98 ^c	54.21 ± 4.23 ^c	121.25 ± 1.26 ^c
Ferric reducing antioxidant power (FRAP) assay	245.23 ± 3.21 ^a	65.23 ± 2.15 ^b	454 ± 3.56 ^a

Values followed by different superscripts between treatments are significantly different according to the ANOVA-Tukey's honestly significantly different (HSD) multiple comparison test (at $P \leq 0.05$).

3.6. Antibacterial activity

The antibacterial activity of purified substance of Tetracosamethyl-cyclododecasiloxane was assessed using the disc diffusion technique. The purified compound displayed the greatest antibacterial activity, as indicated in Table 3. The inhibition zones ranged from 25.06 ± 1.2, 26.03 ± 0.9, 21.03 ± 0.8, 20.05 ± 9.2, 25.09 ± 0.5, 28.12 ± 1.2, 30.12 ± 2.3, 25.04 ± 1.3, to 28.45 ± 25 mm, respectively. Gram-positive bacteria, specifically *Bacillus megaterium* MTCC441 and *Bacillus cereus* MTCC6840, exhibited greater general susceptibility. *Staphylococcus aureus* MTCC737, *Bacillus subtilis* MTCC441, *Bacillus aryabhattai* MTCC14579, *Pseudomonas putida* MTCC1194, *Escherichia coli* MTCC1302, *Klebsiella pneumoniae* MTCC4727, and *Serratia marcescens* MTCC4822 all showed high susceptibility to gram-negative bacteria. Nevertheless, the refined chemical remained the most potent agents.

The present investigation provides evidence for the efficacy of purified compounds as powerful antimicrobials. The disc-diffusion approach revealed that the isolated component of *A. visnaga*, *L. inermis* exhibits notable antibacterial action against both gram[−] and gram⁺ bacteria, resulting in large zones of inhibition. The susceptibility of the examined microorganisms, including *Bacillus megaterium* MTCC441 and *Bacillus cereus* MTCC6840, was found to be higher with values ranging from 20.05 ± 9.2 to 30.12 ± 2.3 (21.03 ± 0.8, 20.05 ± 9.2, 25.09 ± 0.5, 28.12 ± 1.2, 30.12 ± 2.3, 25.04 ± 1.3, 28.45 ± 25) mm. Gram[−] bacteria, including *Staphylococcus aureus* MTCC737, *B. subtilis* MTCC441, *B. aryabhattai* MTCC14579, *Pseudomonas putida* MTCC1194, and *Escherichia coli* MTCC1302, exhibited notable activity (Table 3). An inhibitory zone measuring 14 millimeters or greater, as determined by the disc diffusion test, is considered as exhibiting the significant antimicrobial activity [25]. The results of our study align with prior research that found that Tetracosamethyl-cyclododecasiloxane isolated from the fresh leaves of *Lawsonia inermis* had significant antibacterial effects against *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli* and *P. aeruginosa*.

The current study examined the antioxidant activity of a metabolite from a very effective strain, comparing it to ascorbic acid as a control sample (Table 2). The scavenging activity was observed to be greater in the extract compared to that of ascorbic acid. The findings indicated that

Table 3. The diameters of inhibition zones treated with purified compound t Tetracosamethyl-cyclododecasiloxane

Таблица 3. Диаметры участков ингибирования очищенным соединением тетракозаметил-циклододэкасилксана

Microorganism	Purified compound Tetracosamethyl-cyclododecasiloxane “Diameter of inhibition zone (mm)”
<i>Staphylococcus aureus</i> (MTCC737)	25.06 ± 1.2 ^d
<i>Bacillus subtilis</i> (MTCC441)	26.03 ± 0.9 ^c
<i>Bacillus megaterium</i> (MTCC441)	21.03 ± 0.8 ^e
<i>Bacillus cereus</i> (MTCC6840)	20.05 ± 9.2 ^f
<i>Bacillus aryabhattai</i> (MTCC14579)	25.09 ± 0.5 ^d
<i>Pseudomonas putida</i> (MTCC1194)	28.12 ± 1.2 ^b
<i>Escherichia coli</i> (MTCC1302)	30.12 ± 2.3 ^a
<i>Klebsiella pneumoniae</i> (MTCC4727)	25.04 ± 1.3 ^d
<i>Serratia marcescens</i> (MTCC4822)	28.45 ± 25 ^b

Values followed by different superscripts between treatments are significantly different according to the ANOVA-Tukey's honestly significantly different (HSD) multiple comparison test (at $P \leq 0.05$).

the metabolite exhibited strong antioxidant properties at a concentration of 2 µg/ml, which was lower than that of ascorbic acid. Moreover, the average range of DPPH radical scavenging activity of *L. inermis* was seen to be in close proximity to the control sample, thus suggesting a significant radical scavenging activity of the plant extract. The antioxidant assay (DPPH reduction assay) showed a gradual increase in the percentage of antioxidant activity, ranging from a minimum inhibition of 63.30% to a maximum of 89.95%. Lawsone (2-hydroxynaphthoquinone), mucilage, mannite, gallic acid, and tannic acid make up henna compounds. About 25% of market drugs are plant-based [26]. The chloroform and hexane extracts exhibited negligible antioxidant action, with an IC₅₀ value greater than 100 mg/l. [27]. The alcoholic extracts derived from the leaves of *Lawsonia inermis* showed notable capability to remove DPPH free radicals. The petroleum ether fraction exhibited the highest scavenging rate of 79.16 ± 0.98%, which was similar to that of ascorbic acid around 78 ± 1.5%. It was followed by the ethyl acetate fraction with a scavenging rate of 73.77 ± 0.97% and the chloroform fraction with a scavenging rate of 72.61 ± 0.98%. The overall antioxidant capacity exhibited a positive correlation with the escalating concentration of the samples [28]. The antioxidant activity of the henna leaf extracts was assessed using the phosphor-molybdenum method, DPPH radical scavenging test, reducing power analysis, and lipid peroxidation inhibition assay. The ethanol extract exhibited superior antioxidant activity in all experiments compared to the petroleum ether, dichloromethane, and aqueous extracts. The efficacy of the aqueous extract was lower compared to the ethanol extract, but higher than that of the petroleum ether and dichloromethane extracts. The ethanol and aqueous extracts exhibited higher levels of phenolics (141.65 ± 0.29 and 51.46 ± 0.44 mg gallic acid equivalent/g extract, respectively) compared to the dichloromethane (4.60 ± 0.03 mg gallic acid equivalent/g extract) and petroleum ether extracts (3.72 ± 0.23 mg gallic acid equivalent/g extract) [29]. Predicting the mechanism that stands behind the increased anticancer activity of *L. inermis* is challenging due to its intricate pharmacological activities. Nevertheless, the inherent characteristics of *L. inermis* working together have a significant impact on improving the effectiveness of the desired biological outcome. Using the experimental results and existing literature, a hypothesis is formulated to explain the observed synergistic effect of *L. inermis*. Herbal medicines are widely regarded as being safe. Nevertheless, it is crucial to assess their biological safety prior to its using in order to prevent potentially lethal outcomes [30,31]. The pharmacological effects of *Lawsonia inermis* are unquestionable; nevertheless, it is also essential to conduct a toxicological assessment.

The present study aimed to analyze the properties of specific medicinal plants that have previously shown their antibacterial effects against drug-resistant gram⁺ and gram[−] bacteria. The tests detailed in this report were specifically conducted to study the synthesis of *L. inermis* extract. It demonstrated high antibacterial efficacy against *E. coli*, *Staphylococcus* sp., *Pseudomonas* ssp., *Bacillus* sp., it demonstrated the most prominent antibacterial efficacy, with a corresponding increase in the diameter of the inhibitory zone, as compared to the extracts derived from plants. The study measured the zone of inhibition (in centimeters) of *L. inermis* against *E. coli* and *Staphylococcus* sp. *E. Coli* exhibited the highest sensitivity to the ethanol extract at a concentration of 30 µl, followed by *Pseudomonas* sp. at a concentration of 90 µl, as observed in a 2 cm zone. However, none of the other solvents used for elution exhibited significant

antibacterial action, with the exception of ethanol. All extracts in the study showed antibacterial efficacy against all bacterial strains tested. Nevertheless, the bacterial strains exhibited varying levels of susceptibility to each extract. As per the research conducted by Gull et al. [32], The phytochemical elements demonstrate antibacterial activity specifically against gram-positive bacteria, however, they do not have any effect on gram-negative bacteria. Our analysis revealed that the substance had antibacterial action against both gram positive bacteria (*S. aureus* and *B. subtilis*) and gram negative bacteria (*E. coli* and *Pseudomonas aeruginosa*). The research was conducted by Habbal and colleagues [33] in addition. The findings of Hussain et al. corroborate our own. The results of the *in vitro* antimicrobial assay indicated that the chloroform extract showed greater potential as an antibacterial agent for microorganisms mentioned below: *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Salmonella typhi*, various species of *Klebsiella*, and *Shigella*. On the other hand, the acetone extract demonstrated effectiveness against *E. coli* and *B. subtilis*. This study focuses on analyzing the antibacterial activities of extracts obtained from *L. inermis* leaves in order to inhibit the growth of specific gram-positive bacteria. The findings of this study demonstrate that varying doses of henna extract resulted in appearing of distinct inhibitory zones against the tested bacterium isolates [34]. On the other hand, Rath et al. conducted a study in India where they found that the ethanolic extracts of henna had significant antibacterial activity against *Staphylococcus aureus* [35]. Moreover, in a similar study conducted by Gonelimali et al., it was reported that the highest level of inhibition was observed in ethanolic extracts against *Staphylococcus aureus* (26 mm) among the tested gram-positive bacteria. These findings demonstrate the vulnerability of this microorganism [36]. Furthermore, data from comparable studies have observed that *Staphylococcus aureus* exhibits greater vulnerability compared to other multi-drug-resistant bacteria when exposed to the applied plant extracts and antibiotics [37]. Ali and colleagues stated that. The rationale for this observation may be attributed to the diverse range of antibacterial chemicals that have been identified in the ethanolic extract [38]. The plant extract cleared a zone with diameter ranging from 18 mm to 30 mm, thus indicating its usability as an antibacterial agent against multidrug resistant organisms such as *Staphylococcus aureus*. These findings demonstrate the efficacy of henna extract against *Staphylococcus aureus* in a laboratory environment, and are consistent with the results obtained in previous investigations [39]. The antibacterial action of plants is primarily attributed to their secondary metabolites [40]. Phenolic chemicals and tannins are the main components of these secondary metabolites. Phytochemical investigations were conducted to identify the metabolites present in various extracts of *Lawsonia inermis*. Table 1 shows that methanol, acetone, and aqueous extracts contained cardioglycosides, terpenoids, carbohydrates, phenols, quinones and tannins. Likewise, according to Sharma et al. [41], the ethanolic extract of cinnamon did not show efficacy against gram-negative bacteria, however ginger shown the capability to inhibit the growth of these germs. Water soluble components found in most plant materials typically consist of starches,

tannins, saponins, polypeptides, terpenoids, lectins, and other ions. On the other hand, the alcoholic extract of these materials contains flavonoids, alkaloids, tannins, sterols, polyphenols, and so on [41].

3.7. Cytotoxic activity

The isolated compound Tetracosamethyl-cyclododecasiloxane obtained from *L. inermis*, was tested for its anticancer activity *in vitro* against the MCF-7 cell line using the MTT assay. The results indicated that at a concentration of 10 µg/ml, it achieved 99.71% of cell death. The IC₅₀ value, which represents the concentration required to inhibit 50% of cell growth, was found to be 1.682 µg/ml. Based on the MTT assay results, it can be inferred that the extent of cell death was directly correlated with the concentration (1.0, 5.0, and 10.0 µg/ml) of *L. inermis*. The MCF-7 breast cancer cell lines, which typically have a spherical shape, were treated with *L. inermis*. This therapy, known for its anticancer properties, resulted in the inhibition of cell development and finally led to cell death. The dead cells then aggregate together to form round structures. The phytochemical screening of *Abutilon indicum L.* revealed the existence of compounds that have proved to possess cytotoxic activity. In a previous study, Hussain et al. [42] It was also observed that the methanolic leaf extract and purified substance of *L. inermis* showed significant cytotoxic action at a concentration of 400 µg/ml.

Table 4. The cytotoxic effect of the purified *S. ariculata* leaf component on cancer cell lines (MTT 72 h IC₅₀, µg/mL)

Таблица 4. Цитотоксическое воздействие очищенного вещества из листьев *S. ariculata* на линии раковых клеток (MTT 72 ч, ИК₅₀, мкг/мл)

Samples	% of viability	IC ₅₀ µg/mL
Purified compound	99.71 ± 0.19	< 20
Crude extract	54.64 ± 0.14	20

4. Conclusion

The leaf extract of *L. inermis* contains bioactive chemicals that feature antioxidant, antibacterial, and anticancer properties. The extracts obtained from wild plants include a significant amount of essential fatty acids and numerous other bioactive chemicals, which have the potential for both industrial applications and biological effects. The most prevalent chemicals are phenol, tetracosamethyl-cyclododecasiloxane, and *L. inermis* leaf extract. These molecules can be used to create new pharmaceutical products for a range of non-infectious conditions, including cancer, hypertension, and diabetes. The identified chemicals should undergo additional investigations to determine their potential in the prevention and treatment of both infectious and non-infectious human disorders. In order to comprehend the mechanisms by which the active ingredients work, it is necessary to do thorough chemical analysis, as well as *in vivo* studies on the pharmacokinetics and pharmacodynamics of each component separately. Further research is required to elucidate the enduring consequences of combining pharmaceutical products with other medications.

REFERENCES

- Gullo, V. P., Hughes, D. E. (2005). Exploiting new approaches for natural product drug discovery in the biotechnology industry. *Drug Discovery Today: Technologies*, 2(3), 281–286. <https://doi.org/10.1016/j.ddtec.2005.08.002>
- Allaith, S. A., Abdel-aziz, M. E., Thabit, Z. A., Altemimi, A. B., Abd El-Ghany, K., Giuffrè, A. M. et al. (2022). Screening and molecular identification of lactic acid bacteria producing β-glucan in boza and cider. *Fermentation*, 8(8), Article 350. <https://doi.org/10.3390/fermentation8080350>
- Thraeib, J. Z., Altemimi, A. B., Jabbar Abd Al-Manhel, A., Abdelmaksoud, T. G., El-Maksoud, A. A., Madankar, C. S. et al. (2022). Production and characterization of a bioemulsifier derived from microorganisms with potential application in the food industry. *Life*, 12(6), Article 924. <https://doi.org/10.3390/life12060924>
- Al Bratty, M., Makeen, H. A., Alhazmi, H. A., Syame, S. M., Abdalla, A. N., Homeida, H. E. et al. (2020). Phytochemical, cytotoxic, and antimicrobial evaluation of the fruits of miswak plant, *Salvadora persica L.* *Journal of Chemistry*, 2020(1), Article 4521951. <https://doi.org/10.1155/2020/4521951>
- Bennour, N., Mighri, H., Eljani, H., Zammouri, T., Akrou, A. (2020). Effect of solvent evaporation method on phenolic compounds and the antioxidant activity of *Moringa oleifera* cultivated in Southern Tunisia. *South African Journal of Botany*, 129, 181–190. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2019.05.005>
- Lawal, H. O., Etatuvi, S. O., Fawehinmi, A. B. (2012). Ethnomedicinal and pharmacological properties of *Morinda lucida*. *Journal of Natural Products*, 5, 95–99.
- Survase, S. A., Annapure, U. S., Singhal, R. S. (2010). The effect of medium supplementation with second carbon source and amino acids for enhanced production of cyclosporin A. *Current Trends in Biotechnology and Pharmacy*, 4(3), 764–773.
- Behbahani, B. A., Noshad, M., Falah, F. (2019). Study of chemical structure, antimicrobial, cytotoxic and mechanism of action of *Syzygium aromaticum* essential oil on foodborne pathogens. *Potravinarstvo Slovak Journal of Food Sciences*, 13(1), 875–883. <https://doi.org/10.5219/1226>
- Altemimi, A. B., Al-Haliem, S. M., Alkanan, Z. T., Mohammed, M. J., Hesarinejad, M. A., Najm, M. A. et al. (2023). Exploring the phenolic profile, antibacterial, and antioxidant properties of walnut leaves (*Juglans regia L.*). *Food Science and Nutrition*, 11(11), 6845–6853. <https://doi.org/10.1002/tns.3.5554>
- Abdelmaksoud, T. G., Hesarinejad, M. A., Shokrollahi Yancheshmeh, B. (2022). The effect of cold plasma on the enzymatic activity and quality characteristics of mango pulp. *Research and Innovation in Food Science and Technology*, 10(4), 341–350. <https://doi.org/10.22101/IRIFST.2021.247462.1183>
- Labiad, M. H., Harhar, H., Ghanimi, A., Tabyaoui, M. (2017). Phytochemical screening and antioxidant activity of Moroccan *Thymus satureioides* extracts. *Journal of Materials and Environmental Sciences*, 8(6), 2132–2139.
- Bahuguna, A., Khan, I., Bajpai, V. K., Kang, S. C. (2017). MTT assay to evaluate the cytotoxic potential of a drug. *Bangladesh Journal of Pharmacology*, 12(2), 115–118. <https://doi.org/10.3329/bjpp.v12i2.30892>
- Behbahani, B. A., Shahidi, F., Yazdi, F. T., Mortazavi, S. A., Mohebbi, M. (2017). Use of *Plantago* major seed mucilage as a novel edible coating incorporated with *Anethum graveolens* essential oil on shelf life extension of beef in refrigerated storage. *International Journal of Biological Macromolecules*, 94, 515–526. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2016.10.055>
- Ghribi, F., Bejaoui, S., Zupa, R., Trabelsi, W., Marengo, M., Chetoui, I. et al. (2023). New insight into the toxic effects of lithium in the ragworm *Perinereis cultrifera* as revealed by lipidomic biomarkers, redox status, and histopathological features. *Environmental Science and Pollution Research*, 30(26), 68821–68835. <https://doi.org/10.1007/s11356-023-27223-7>
- Plaza, B., Haarich, S. N. (2015). The Guggenheim Museum Bilbao: Between regional embeddedness and global networking. *European Planning Studies*, 23(8), 1456–1475. <https://doi.org/10.1080/09654313.2013.817543>
- Ibnouf, E. O., Aldawsari, M. F., Ali Waggiallah, H. (2022). Isolation and extrac-

- tion of some compounds that act as antimicrobials from actinomycetes. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 9(8), Article 103352. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2022.103352>
17. Principe, P. P., Fisher, W. S. (2018). Spatial distribution of collections yielding marine natural products. *Journal of Natural Products*, 81(10), 2307–2320. <https://doi.org/10.1021/acs.jnatprod.8b00288>
 18. Iqbal, K., Iqbal, J., Staerk, D., Kongstad, K. T. (2017). Characterization of anti-leishmanial compounds from Lawsonia inermis L. leaves using semi-high resolution antileishmanial profiling combined with HPLC-HRMS-SPE-NMR. *Frontiers in Pharmacology*, 8, Article 337. <https://doi.org/10.3389/fphar.2017.00337>
 19. Mehmood, T., Arshad, H., Nawaz, S., Ullah, A., Hafeez, A., Anwar, F. et al. (2020). Pharmaceutical potential and phenolics profiling of leaves and bark of Calotropis procera in relation to extraction solvents. *Pharmaceutical Chemistry Journal*, 54(6), 631–641. <https://doi.org/10.1007/s11094-020-02250-7>
 20. Ismaili, H., Milella, L., Fkih-Tetouani, S., Ilidrissi, A., Camporese, A., Sosa, S. et al. (2004). In vivo topical anti-inflammatory and in vitro antioxidant activities of two extracts of Thymus satureioides leaves. *Journal of Ethnopharmacology*, 91(1), 31–36. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2003.11.013>
 21. Gholamshahi, S., Salehi Sardoei, A. (2019). Phenolic compounds and antioxidant activity of plant milkweed (Calotropis Procera). *Eco-phytochemical Journal of Medicinal Plants*, 7(1), 77–86.
 22. Mutlu-Ingok, A., Devecioglu, D., Dikmetas, D. N., Karbancioglu-Guler, F., Capanoglu, E. (2020). Antibacterial, antifungal, antimycotoxicogenic, and antioxidant activities of essential oils: An updated review. *Molecules*, 25(20), Article 4711. <https://doi.org/10.3390/molecules25204711>
 23. Ibrahim, N. I., Tadj, N. B.M.I., Sarker, Md. M.R., Mohamed, I.N. (2020). The potential mechanisms of the neuroprotective actions of oil palm phenolics: Implications for neurodegenerative diseases. *Molecules*, 25(21), Article 5159. <https://doi.org/10.3390/molecules25215159>
 24. Al-Rowaily, S. L., Abd-ElGawad, A. M., Assaeed, A. M., Elgamal, A. M., Gendy, A. E.-N. G. E., Mohamed, T. A. et al. (2020). Essential oil of Calotropis procera: Comparative chemical profiles, antimicrobial activity, and allelopathic potential on weeds. *Molecules*, 25(21), Article 5203. <https://doi.org/10.3390/molecules25215203>
 25. Bouyahya, A., Et-Touys, A., Abrini, J., Talbaoui, A., Fellah, H., Bakri, Y. et al. (2017). Lavandula stoechas essential oil from Morocco as novel source of anti-leishmanial, antibacterial and antioxidant activities. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 12, 179–184. <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2017.10.003>
 26. Dhoulfi, Z., Ben Jannet, H., Mahjoub, B., Leri, M., Guillard, J., Saidani Tounsi, M. et al. (2019). 1, 2, 4-trihydroxynaphthalene-2-O-β-D-glucopyranoside: A new powerful antioxidant and inhibitor of Aβ42 aggregation isolated from the leaves of Lawsonia inermis. *Natural Product Research*, 33(10), 1406–1414. <https://doi.org/10.1080/14786419.2017.1419229>
 27. Chaibi, R., Drine, S., Ferchichi, A. (2017). Chemical study and biological activities of various extracts from Lawsonia inermis (Henna) seeds. *Acta Medica Mediterranea*, 33, 981–986.
 28. Hasan, K. M., Yesmin, S., Akhter, S. F., Paul, S., Sarker, S., Islam, A. et al. (2016). Hepatoprotective potentiality of various fractions of ethanolic extracts of Lawsonia inermis (henna) leaves against chemical-induced hepatitis in rats. *Biochemistry and Molecular Biology*, 1(2), 17–22. <https://doi.org/10.11648/j.bmb.20160102.12>
 29. Philip, J. P., Madhumitha, G., Mary, S. A. (2011). Free radical scavenging and reducing power of Lawsonia inermis L. seeds. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*, 4(6), 457–461. [https://doi.org/10.1016/s1995-7645\(11\)60125-9](https://doi.org/10.1016/s1995-7645(11)60125-9)
 30. Yang, C.-S., Chen, J.-J., Huang, H.-C., Huang, G.-J., Wang, S.-Y., Chao, L.-K. et al. (2017). New flavone and eudesmane derivatives from Lawsonia inermis and their inhibitory activity against NO production. *Phytochemistry Letters*, 21, 123–127. <https://doi.org/10.1016/j.phytol.2017.06.012>
 31. Altemimi, A. B., Alhelfi, N., Ali, A. A., Pasqualone, A., Fidan, H., Abedelmak-soud, T. G. et al. (2022). Evaluation of baseline cleanliness of food contact surfaces in Basrah Governorate restaurants using ATP-bioluminescence to assess the effectiveness of HACCP application in Iraq. *Italian Journal of Food Science*, 34(3), 66–90. <https://doi.org/10.15586/ijfs.v34i3.2237>
 32. Gull, I., Sohail, M., Aslam, M., Athar, M. (2013). Phytochemical, toxicological and antimicrobial evaluation of Lawsonia inermis extracts against clinical isolates of pathogenic bacteria. *Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials*, 12(1), Article 36. <https://doi.org/10.1186/1476-0711-12-36>
 33. Habbal, O. A., Al-Jabri, A. A., El-Hag, A. H., Al-Mahrooqi, Z. H., Al-Hashmi, N. A. (2005). In-vitro antimicrobial activity of Lawsonia inermis Linn (henna). A pilot study on the Omani henna. *Saudi Medical Journal*, 26(1), 69–72.
 34. Tariq Hussain, T. Arshad, M. Khan, S. Sattar, H. Qureshi, M. S. (2011). In vitro screening of methanol plant extracts for their antibacterial activity. *Pakistan Journal of Botany*, 43(1), 531–538.
 35. Rath, P. V., Ambhore, D., Jamode, P., Katkar, P., Kamble, P. (2017). Antimicrobial activity of Henna leaves against Staphylococcus aureus and Escherichia coli. *World Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 6(10), 981–990.
 36. Goniemali, F. D., Lin, J., Miao, W., Xuan, J., Charles, F., Chen, M. et al. (2018). Antimicrobial properties and mechanism of action of some plant extracts against food pathogens and spoilage microorganisms. *Frontiers in Microbiology*, 9, Article 1639. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.01639>
 37. Ali, K. S., Al-Hood, F. A., Obad, K., Alshakka, M. (2016). Phytochemical screening and antibacterial activity of Yemeni Henna (Lawsonia inermis) against some bacterial pathogens. *Journal of Pharmaceutical and Biological Sciences*, 11(2), 24–27.
 38. Boubaya, A., Marzougui, N., Yahia, L. B., Ferchichi, A. (2011). Chemical diversity analysis of Tunisian Lawsonia inermis L. populations. *African Journal of Biotechnology*, 10(25), 4980–4987.
 39. Jain, V.C., Shah, D.P., Sonani, N.G., Dhakara, S., Patel, N. M. (2010). Pharmacog-nostic and preliminary phytochemical investigation of L leaf. *Romanian Journal of Biology — Plant Biology*, 55(2), 127–133.
 40. Shastri, S., Kiran, U. P., Aswathanarayana, B. J. (2012). Effect of acute and chronic administration of the aqueous extract of Lawsonia inermis leaves on haloperidol induced catalepsy in albino mice. *Research Journal of Pharmaceutical Biological and Chemical Sciences*, 3(3), 1107–1116.
 41. Sharma, R. K., Goel, A., Bhatia, A. K. (2016). Antityphoid activity and phyto-chemical screening of different extracts of L. inermis plant leaves. *International Journal of Current Research*, 8(08), 37539–37542.
 42. Hussain, T., Bajpai, S., Saeed, M., Moin, A., Alafnan, A., Khan, M. et al. (2018). Potentiating effect of ethnomedicinal plants against proliferation on different cancer cell lines. *Current Drug Metabolism*, 19(7), 584–595. <https://doi.org/10.2174/1389200219666180305144841>

AUTHOR INFORMATION	СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ
Affiliation	Принадлежность к организации
Seemaisamy Revathi , Researcher, Research Center for Applied Zoology, Research Organization for Life Science and Environment, National Research and Innovation Agency (BRIN) Cibinong city, Bogor, 1691, Indonesia Tel.: +91-908-053-11-24 E-mail: reva001@brin.go.id ORCID: https://orcid.org/0000-0003-2082-9425	Ревати Симейсами — научный сотрудник, Исследовательский центр прикладной зоологии, Научно-исследовательская организация в области наук о жизни и окружающей среде, Национальное агентство исследований и инноваций (BRIN) Чибинонг сити, Богор, 1691, Индонезия Тел.: +91-908-053-11-24 E-mail: reva001@brin.go.id ORCID: https://orcid.org/0000-0003-2082-9425
Elham K. Nasser , Associate Professor, Department of Food Science, College of Agriculture, University of Basra Basrah, 61004, Iraq Tel.: +964-773-491-31-98 E-mail: elham.nasser@uobasrah.edu.iq ORCID: https://orcid.org/0000-0001-8750	Нассер Эльхам К. — адъюнкт-профессор, кафедра пищевых наук, сельскохозяйственный колледж, Университет Басры Басра, 61004, Ирак Тел.: +964-773-564-00-90 E-mail: elham.nasser@uobasrah.edu.iq ORCID: https://orcid.org/0000-0001-8750
H. Khassaf Wafaa , Researcher, Date Palm Research Centre, University of Basrah Basrah, 61004, Iraq Tel.: +964-773-564-00-90 E-mail: wafaa.khassaf@uobasrah.edu.iq ORCID: https://orcid.org/0000-0001-8329-8436	Вафаа Х. Хассаф — научный сотрудник, Исследовательский центр финиковой пальмы, Университет Басры Басра, 61004, Ирак Тел.: +964-773-564-00-90 E-mail: wafaa.khassaf@uobasrah.edu.iq ORCID: https://orcid.org/0000-0001-8329-8436
Ammar B. Altemimi , Associate Professor, Department of Food Science, College of Agriculture, University of Basra Basrah, 61004, Iraq College of Medicine, University of Warith Al-Anbiyaa, Karbala, Iraq Tel.: +964-773-564-00-90 E-mail: ammar.ramddan@uobasrah.edu.iq ORCID: https://orcid.org/0000-0001-7750-5988	Ал-Темими Аммар Б. — адъюнкт-профессор, кафедра пищевых наук, сельскохозяйственный колледж, Университет Басры Басра, 61004, Ирак Медицинский колледж, Университет Варит Аль-Анбия, Кербела, Ирак Тел.: +964-770-567-37-84 E-mail: anfal.abdul nabi@uobasrah.edu.iq ORCID: https://orcid.org/0009-0006-2658-2194

AUTHOR INFORMATION		СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ	
Affiliation		Принадлежность к организации	
Sutikno Sutikno , Researcher, Research Center for Applied Zoology, Research Organization for Life Science and Environment, National Research and Innovation Agency (BRIN) Cibinong city, Bogor, 1691, Indonesia Tel.: +62–898–657–63–00 E-mail: suti009@brin.go.id ORCID: https://orcid.org/0000-0002-2407-4747		Сутикно Сутикно — научный сотрудник, Исследовательский центр прикладной зоологии, Научно-исследовательская организация в области наук о жизни и окружающей среде, Национальное агентство исследований и инноваций (BRIN) Чибинонг сити, Богор, 1691, Индонезия Тел.: +62–898–657–63–00 E-mail: suti009@brin.go.id ORCID: https://orcid.org/0000-0002-2407-4747	
Titik Kartika , Researcher, Research Center for Applied Zoology, Research Organization for Life Science and Environment, National Research and Innovation Agency (BRIN) Cibinong city, Bogor, 1691, Indonesia Tel.: +62–812–7072–19–27 E-mail: titik.kartika@brin.go.id ORCID: https://orcid.org/0000-0002-9185-0400		Картика Титик — научный сотрудник, Исследовательский центр прикладной зоологии, Научно-исследовательская организация в области наук о жизни и окружающей среде, Национальное агентство исследований и инноваций (BRIN) Чибинонг сити, Богор, 1691, Индонезия Тел.: +62–812–7072–19–27 E-mail: titik.kartika@brin.go.id ORCID: https://orcid.org/0000-0002-9185-0400	
Ikhsan Guswenrivo , Researcher, Research Center for Applied Zoology, Research Organization for Life Science and Environment, National Research and Innovation Agency (BRIN) Cibinong city, Bogor, 1691, Indonesia Tel.: +62–813–1001–97–63 E-mail: ikhsan.guswenrivo@brin.go.id ORCID: https://orcid.org/0000-0002-3969-0067		Гусвенриво Ихсан — научный сотрудник, Исследовательский центр прикладной зоологии, Научно-исследовательская организация в области наук о жизни и окружающей среде, Национальное агентство исследований и инноваций (BRIN) Чибинонг сити, Богор, 1691, Индонезия Тел.: +62–813–1001–97–63 E-mail: ikhsan.guswenrivo@brin.go.id ORCID: https://orcid.org/0000-0002-3969-0067	
Farhang H. Awlqadr , Researcher, Food Science and Quality Control, Halabja Technical College, Halabja Research Center, Sulaimani Polytechnic University P. O. Box: 70–236, Sulaymaniyah, Iraq Tel.: +96–477–014–209–62 E-mail: Farhang.hamid.a@spu.edu.iq ORCID: https://orcid.org/0000-0002-1737-5920		Аулькадр Фарханг Х. — научный сотрудник, Технический колледж прикладных наук Халабджи, Исследовательский центр Халабджи, Сулейманский политехнический университет П/я 70–236, Сулеймания, Ирак Тел.: +96–477–014–209–62 E-mail: Farhang.hamid.a@spu.edu.iq ORCID: https://orcid.org/0000-0002-1737-5920	
Tarek G. Abedelmaksoud , Associate Professor, Department of Food Science, Faculty of Agriculture, Cairo University. 1, Gamaa Street, Giza, 12613, Egypt Tel.: +2–0110–144–12–80 E-mail: tareekgamal_88@agr.cu.edu.eg ORCID: https://orcid.org/0000-0002-7012-6667 * corresponding author		Абедельмаксуд Т. Г. — 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: https://orcid.org/0000-0002-7012-6667 * автор для контактов	
Contribution		Критерии авторства	
Authors are 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.	
Conflict of interest		Конфликт интересов	
The authors declare no conflict of interest.		Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.	

DOI: <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2025-8-1-81-92>



Received 22.11.2024

Accepted in revised 17.03.2025

Accepted for publication 19.03.2025

© Cataluña R. E. G. A., Base R. L., 2025

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

Original scientific article

Open access

THEORETICAL AND CONCEPTUAL ANALYSIS: AFLATOXIN INTERVENTION OF MINDANAO, PHILIPPINES

Razel Elaine Grace A. Cataluña^{1*}, Renato L. Base²

¹Department of Agriculture — Regional Field Office 10, Cagayan de Oro, Philippines

²University of Science and Technology of Southern Philippines, Cagayan de Oro, Philippines

KEY WORDS:

*aflatoxin intervention,
health belief model,
social cognitive theory,
agricultural practices,
food safety*

ABSTRACT

This study examines the Aflatoxin Intervention Program being implemented by the Department of Agriculture Regional Field Office 10 in Bukidnon, Northern Mindanao, Philippines, through the lenses of the Health Belief Model (HBM) and Social Cognitive Theory (SCT). Using a descriptive, correlational, survey design, the data from 34 corn farmers across six municipalities were analyzed. The design analyzes their awareness of aflatoxin toxicity, adoption of mitigation protocols and access to media platforms. Findings show high awareness and adoption of aflatoxin mitigation protocols, but a significant part of the participants remains unaware, thus indicating growth points for improvement. High awareness of the mitigation protocols suggest that communication strategies have been effective and observational learning is critical in the awareness process. High adoption rates among early and mainstream adopters of the mitigation protocols convey practical impact of the awareness and educational programs of the department. Media platform access shows weak impact, highlighting the need for more interactive educational strategies. Strong correlations between awareness and adoption rates validate HBM and SCT principles, emphasizing perceived severity, benefits, and self-efficacy. Insights into effective communication strategies underline the importance of targeted, community-based interventions that promote adoption of aflatoxin mitigation protocols. These findings contribute to food safety and wider adoption of good agricultural practices in corn cultivation, providing a framework for future studies and interventions to enhance aflatoxin management in Northern Mindanao.

Поступила 22.11.2024

Поступила после рецензирования 17.03.2025

Принята в печать 19.03.2025

© Каталуна Р. Е. Г. А., Базе Р. И., 2025

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

Научная статья

Open access

ТЕОРЕТИЧЕСКИЙ И КОНЦЕПТУАЛЬНЫЙ АНАЛИЗ: КОНТРОЛЬ СОДЕРЖАНИЯ АФЛАТОКСИНА НА ТЕРРИТОРИИ МИНДАНАО, ФИЛИППИНЫ

Каталуна Р. Е. Г. А.^{1*}, Базе Р. И.²

¹Департамент сельского хозяйства — Региональное отделение 10, Кагаян-де-Оро, Филиппины

²Университет науки и технологии Южных Филиппин, Кагаян-де-Оро, Филиппины

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: АННОТАЦИЯ

*контроль содержания
афлатоксина,
модель веры
в здоровье, теория
социального научения,
сельскохозяйственные
методы, безопасность
продуктов питания*

В этом исследовании рассматривается Программа контроля содержания афлатоксина, проводимая главным управлением региональной службы 10 министерства сельского хозяйства в Букидноне, провинция Северный Минданао, Филиппины, через призму модели веры в здоровье (МВЗ) и теории социального научения (ТСН). Используя метод описания, корреляционного анализа и опроса были проанализированы данные, полученные от 34 фермеров, выращивающих кукурузу, в шести муниципалитетах. План статистического обследования анализирует их осведомленность о токсичности афлатоксина, принятие протоколов смягчения воздействия афлатоксина, и наличие доступа к медиаплатформам. Результаты показывают высокую осведомленность и принятие протоколов смягчения воздействия афлатоксина, но значительная часть опрошенных остается неосведомленной, что указывает на области работ над улучшением ситуации. Высокая осведомленность о протоколах смягчения воздействия афлатоксина свидетельствует о том, что стратегии коммуникации оказались эффективными, а обучение через наблюдение имеет решающее значение в процессе создания осведомленности. Высокие показатели принятия протокола среди тех лиц, кто одними из первых примкнул к соблюдению такового протокола, и лиц, которые позже составили основную массу последователей протоколов смягчения воздействия афлатоксина, передают далее практический эффект программ повышения осведомленности и образовательных программ министерства. Доступ к медиаплатформам оказывает слабое воздействие, подчеркивая необходимость в применении более интерактивных образовательных стратегий. Прочная корреляция между осведомленностью и уровнем принятия протокола подтверждают принципы МВЗ и ТСН, подчеркивая серьезность восприятия, получаемые преимущества и уверенность в собственных силах. Понимание эффективных стратегий коммуникации подчеркивает важность применения целевых корректирующих программ на уровне общества, что способствует принятию протоколов по смягчению воздействия афлатоксина. Эти результаты способствуют обеспечению безопасности продуктов питания, и более широкому принятию надлежащих сельскохозяйственных практик в отношении возделывания кукурузы, обеспечивая основу для будущих исследований и корректирующих программ, направленных на контроль содержания афлатоксина в Северном Минданао.

1. Introduction

The increasing concern over food safety and security has brought to the forefront the necessity for effective management of aflatoxin contamination, particularly in regions where staple crops are highly sus-

ceptible to it [1,2,3]. Aflatoxin contamination in food and crops has been a global problem compromising food safety and agricultural economics [2,4,5,6]. In Northern Mindanao, Philippines, the Aflatoxin Intervention Program initiated by the Department of Agriculture Regional Field

FOR CITATION: Cataluña, R. E. G. A., Base, R. L. (2025). Theoretical and conceptual analysis: Aflatoxin intervention of Mindanao, Philippines. *Food Systems*, 8(1), 81–92. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2025-8-1-81-92>

ДЛЯ ЦИТИРОВАНИЯ: Каталуна, Р. Е. Г. А., Базе, Р. И. (2025). Теоретический и концептуальный анализ: контроль содержания афлатоксина на территории Минданао, Филиппины. *Пищевые системы*, 8(1), 81–92. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2025-8-1-81-92>

Office 10 aims to address this critical issue [7,8]. This study focuses on providing theoretical insights and a conceptual analysis of the program, guided by the Health Belief Model [9,10,11,12,13]. The general purpose is to understand the dynamics of awareness, mitigation, and adoption among the corn farmers in Bukidnon within the context of aflatoxin content control.

The first objective of this study, therefore, is to explore farmers' awareness of aflatoxin toxicity. Awareness is a foundational element for understanding the severity and susceptibility of crops to aflatoxin contamination. Without adequate awareness, farmers may not fully grasp the risks associated with aflatoxin, resulting to the insufficient preventive measures [14,15,16,17]. This study aims to fill the gap in knowledge by assessing the current level of awareness among the corn farmers in Bukidnon and identifying the factors that contribute to or hinder their understanding of aflatoxin toxicity [18]. By grounding this exploration on the Health Belief Model, the study aims to provide a nuanced understanding of how perceived risks influence the farmers' awareness and guide their subsequent actions.

The second objective delves into the awareness and adoption of mitigation protocols. Effective mitigation strategies are essential to reduce aflatoxin levels in the crops and ensure food safety [14]. However, awareness of these protocols does not automatically converge into their adoption. This study seeks to understand the extent to which farmers are aware of the recommended mitigation protocols and the factors influencing their adoption. By utilizing Social Cognitive Theory [13], the study will analyze how observational learning, self-efficacy, and social norms influence the farmers' decisions to adopt these practices. This objective addresses the gap in knowledge regarding the transition from awareness to action in the context of aflatoxin control [19].

The third objective focuses on the sources of information through which the farmers learn about aflatoxin mitigation protocols. In the digital age, various media platforms play a crucial role in distributing information [20]. This study examines the effectiveness of various media channels used by the Department of Agriculture to raise awareness about aflatoxin. It seeks to find out which media platforms are most effective in reaching the farmers and influencing their knowledge and behaviors. By evaluating the impact of traditional media, social media, and direct training programs, this study aims to provide insights into the most efficient communication strategies for future interventions.

Addressing these objectives will fill significant gaps in the existing literature on aflatoxin management. The findings will provide insightful understanding of the current state of awareness and adoption of mitigation protocols among corn farmers in Bukidnon. Additionally, the study will offer practical recommendations for enhancing communication strategies to improve the distribution of crucial information. By integrating theoretical frameworks with empirical data, the study aims to contribute to the broader discourse on food safety and agricultural practices.

Moreover, the theoretical basics of this study, specifically the Health Belief Model and Social Cognitive Theory, provide a robust framework for analyzing the dynamics of aflatoxin management. Health Belief Model focuses on the cognitive factors that influence health-related behaviors, such as perceived susceptibility and severity of aflatoxin contamination. Social Cognition Theory, on the other hand, emphasizes the role of social influences and self-efficacy in adopting new practices [9,13]. Together, these theories offer a comprehensive approach through which it is possible to review the complexities of awareness and adoption of aflatoxin mitigation strategies.

In Bukidnon, the leading corn producing region in Northern Mindanao, the implications caused by aflatoxin contamination are significant [21,22]. High aflatoxin levels can lead to severe health issues, including liver cancer and stunted growth in children [6,23]. Therefore, understanding and addressing the gaps in knowledge and practices related to aflatoxin management is crucial for the well-being of the community. This study's focus on theoretical insights and practical assessments are aimed to provide a holistic understanding of the Aflatoxin Intervention Program's effectiveness.

Although the sample size and task-oriented sampling method used in this study are limitations that need to be acknowledged, however, by framing the research within reliable theoretical frameworks, the study aims to provide valuable conceptual insights that can inform about future interventions and studies. The goal is not to generalize the findings in common, but to offer a detailed analysis that can guide targeted improvements in the Aflatoxin Intervention Program.

By focusing on awareness, mitigation, and adoption, this study addresses critical areas that are essential for the success of any intervention program implementation. Awareness of the dangers of aflatoxin is the first step toward effective management. Understanding the factors that

influence the adoption of mitigation protocols ensures that farmers are not only informed, but are also motivated to take actions [24]. Evaluating the sources of information helps identify the most effective communication strategies, ensuring that vital information reaches the intended audience [25].

From this perspective, this study aims to provide a thorough theoretical and practical analysis of the Aflatoxin Intervention Program in Northern Mindanao. By leveraging the Health Belief Model and Social Cognitive Theory, the study offers a nuanced understanding of the factors influencing awareness, mitigation, and adoption among the corn farmers. The findings will fill significant gaps in the existing literature and provide practical recommendations for enhancing the program's effectiveness. This insightful approach will contribute to the more comprehensive goal of improving food safety and agricultural practices in the region.

2. Objects and methods

In light of the above discussions and theoretical basics, the study is focused on three primary objectives. Firstly, it seeks to understand how awareness, mitigation, and adoption behaviors among the corn farmers align with the principles of the Health Belief Model (HBM) and Social Cognitive Theory (SCT) within the context of the Aflatoxin Intervention Program. Secondly, it aims to analyze the farmers' responses to the intervention program through these theoretical frameworks to identify emerging patterns and insights. Lastly, the study endeavors to provide a conceptual framework that can guide future interventions and studies, ensuring more comprehensive approach to managing aflatoxin contamination. These objectives collectively aim to fill the significant gaps in current knowledge and practice, offering both theoretical and practical contributions to the field of aflatoxin management.

2.1. Hypotheses of the study

Building on these objectives, the study will delve deeper into the theoretical foundations and practical outcomes of the Aflatoxin Intervention Program. To test empirically our understanding, three hypotheses have been formulated. These hypotheses align with the principles of the Health Belief Model (HBM) and Social Cognitive Theory (SCT), focusing on how awareness influences understanding, how mitigation protocol awareness is converted into actionable solutions, and how the adoption of these protocols impacts aflatoxin contamination. Each hypothesis will be subjected to thorough statistical analysis to validate the conceptual framework and provide insights into the effectiveness of the intervention strategies. These hypotheses are as follows:

Hypothesis 1. Awareness of aflatoxin toxicity, guided by the Health Belief Model (HBM), will lead to a deeper understanding of the risks among corn farmers in Bukidnon.

Hypothesis 2. Mitigation protocol awareness and its alignment with Social Cognitive Theory (SCT) principles will provide the corn farmers with actionable solutions against aflatoxin contamination.

Hypothesis 3. Adoption of mitigation protocols, informed by both HBM and SCT, will effectively reduce aflatoxin contamination, showcasing the practical application of these theoretical frameworks.

2.2. Study area

The study was conducted in the province of Bukidnon, Northern Mindanao, Philippines. Bukidnon is a significant corn-producing region, with corn being its major agricultural product. The study specifically focused on six municipalities within Bukidnon: Damulog, Dangcagan, Kadingilan, Kitaotao, Kibawe, and Cabanglasan. These municipalities have been selected based on aflatoxin data from 2016 to 2021.

2.3. Participants

The study involved a diverse group of participants, including:

- 1) Key information officers in the Department of Agriculture — Regional Field Office 10 (DA-RFO 10), particularly corn operation personnel, the members of the regional GAP team, information personnel, and laboratory personnel who served from 2016 to 2021 and those who are currently serving as well.
- 2) Agricultural technicians and agriculture extension workers from local government units.
- 3) Corn farmers from the selected municipalities.

2.4. Criteria for corn farmer's selection

- 1) Membership in an association, cooperative, or people's organization within the municipality/city.
- 2) Experience in farming corn for at least one cropping season from 2016 to 2021.
- 3) Beneficiary of any program from the Department of Agriculture RFO 10 from 2016 to 2021.

2.5. Research design

The research concept involved descriptive, correlational, and survey research methods to provide a well-rounded examination of the Aflatoxin Intervention Program. The descriptive component captured the current state of awareness, mitigation practices, and adoption behaviors among the corn farmers in Bukidnon. Data were collected to depict the existing conditions and identify key characteristics of the target population. The correlational aspect explored the corcorrelation between the farmers' awareness of aflatoxin toxicity, their understanding and adoption of mitigation protocols, and the sources of information they used. Statistical techniques such as correlation analysis and regression were used to define the profoundness and direction of these corcorrelation.

Structured questionnaire was used to collect primary data directly from the corn farmers. These surveys gathered information on the farmers' levels of awareness, their adoption of mitigation protocols, and their use of various information sources. This method ensures the systematic collection of data, capturing the perspectives of actions and experiences of the target population.

2.6. Sampling method

Task-oriented non-random sampling was used to select the municipalities and the participants based on specific criteria. Each of the six municipalities provided in average five representatives for data collection. Data were gathered through the structured questionnaires, interviews, and focus group discussions. Key information officers and agricultural technicians provided insights into the implementation and impact of the intervention program. Corn farmers responded to the surveys regarding their awareness, mitigation practices, and adoption patterns of behaviors.

2.7. Data analysis

Descriptive statistics summarized the parameters of awareness levels, mitigation practices, and adoption patterns of behaviors. Correlation analysis determined the correlations between the awareness, understanding, and measures adoption. Regression analysis examined whether awareness of mitigation protocols might forecast the identification of actionable solutions.

Overall, this research design aims to provide a theoretically grounded and empirically grounded examination of the Aflatoxin Intervention Program's to the corn farmers in Bukidnon, Northern Mindanao. By integrating descriptive, correlational, and survey methods, the study offers valuable insights into the program's effectiveness and inform on future interventions and studies.

3. Results

The data presented in Tables 1, 2, 3, and 4, shows emerging patterns and insights that can substantiate the understanding of the Aflatoxin Intervention Program of the Department of Agriculture Regional Field Office 10.

3.1. Awareness of aflatoxin danger

Table 1. Percentage distribution of the farmer's awareness of the danger of aflatoxin

Таблица 1. Процентное распределение степени осведомленности фермеров об опасности афлатоксина

Descriptive scores		Awareness danger	%
2.35	3.00	Very aware	21.44
1.68	2.34	Aware	51.88
1.00	1.67	Unaware	26.68
Total (n = 34)			100

The data shows that 51.88% of farmers are "Aware" and 21.44% are "Very Aware" of the dangers of aflatoxin. However, 26.68% remain "Unaware". This shares distribution suggests that while awareness efforts have been moderately successful, a significant group of farmers still lack crucial knowledge.

This finding aligns with the first objective of understanding how awareness behaviors align with Health Belief Model (HBM) and Social Cognitive Theory principles (SCT). The high levels of awareness among the majority of involved population indicate successful distribution of information about aflatoxin risks, highlighting the perceived severity and susceptibility emphasized by HBM.

Theoretical Insights: According to Health Belief Model (HBM), the individuals are more likely to engage in health-promoting behaviors if they perceive a high risk (severity and susceptibility) and believe in the benefits of taking preventive actions. The Social Cognitive Theory (SCT) complements this by suggesting that observational learning and self-

efficacy can enhance awareness levels. Farmers who are "Very Aware" are more likely to benefit from these combined influences.

3.2. Awareness of aflatoxin protocol

Table 2. Percentage distribution of farmer's awareness of aflatoxin protocol

Таблица 2. Процентное распределение степени осведомленности фермеров о протоколе контроля афлатоксина

Descriptive scores		Awareness of protocol	%
2.35	10	Very aware	28.02
1.68	18	Aware	52.45
1.00	7	Unaware	19.54
Total (n = 34)			100

The data indicates that 52.45% of farmers are "Aware" and 28.02% are "Very Aware" of the aflatoxin protocols. Only 19.54% are "Unaware". These numbers reflect a high level of awareness, suggesting effective communication of mitigation strategies.

This aligns with the second objective of analyzing the farmers' responses to the intervention program, especially how awareness of protocols equips the farmers with actionable solutions. The high awareness levels indicate that the farmers are well-informed about the available mitigation strategies.

From a Social Cognitive Theory perspective, this high awareness suggests that social influences and observational learning play significant roles. The farmers likely learn from their peers and agricultural experts who model these protocols. Health Belief Model further supports this by highlighting that perceived benefits of mitigation protocols drive awareness and potential adoption of the corrective measures.

3.3. Adoption of mitigation protocols

Table 3. Percentage distributions of the farmers' rate of adoption of aflatoxin mitigation protocol

Таблица 3. Процентное распределение числа фермеров по уровню принятия протокола по снижению воздействия афлатоксина

Descriptive scores		Rate of adoption of mitigation protocol	%
2.35	3.00	Early adopters	30.59
1.68	2.34	Mainstream adopters	51.00
1.00	1.67	Late adopters	18.41
Total (n = 34)			100

Table 3 shows that 30.59% of the farmers are early adopters, 51% are mainstream adopters, and 18.41% are late adopters of the aflatoxin mitigation protocols. This indicates a strong overall adoption rate, while most farmers incorporate these practices into their routine activities.

Furthermore, this data supports the third objective, which is to evaluate the adoption of mitigation protocols. The significant presence of early and mainstream adopters indicates that the awareness efforts have been converted into practical action, so crucial for the program's success.

On the other hand, Health Belief Model (HBM) suggests that individuals are more likely to adopt health behaviors if they perceive high benefits and low entry barriers. The high adoption rates suggest that farmers perceive the benefits of following mitigation protocols. Social Cognitive Theory emphasis on self-efficacy, and observational learning also explains why substantial portions of farmers have adopted these practices. The farmers, observing peers' successful adoption, build up confidence and encourage widespread uptake of those solutions.

3.4. Access to media platforms for aflatoxin awareness

The farmers' access to different media platforms for aflatoxin awareness varies. Training and seminars have the highest engagement at 20%, followed by brochures (14.5%) and video streaming sites (13.1%). Access to Department of Agriculture Regional Field Office 10 media platform 1 and their Website are notably lower.

This analysis addresses the first objective by evaluating the effectiveness of different media platforms in raising awareness. It is clear that interactive and accessible media such as training and seminars are more effective in reaching the farmers' attention.

According to Social Cognitive Theory, observational learning is pivotal. Training and seminars provide opportunities for the farmers to observe and learn from the experts and the peers, improving their confidence and self-efficacy. The Health Belief Model also suggests that

perceived benefits from direct interaction and detailed learning methods enhance engagement and awareness.

Table 4. Percentage distribution of the farmers that visited department of agriculture's media platform for aflatoxin awareness

Таблица 4. Процентное распределение числа фермеров, посетивших медиаплатформу Министерства сельского хозяйства для повышения своей осведомленности об афлатоксине

Department of Agriculture Regional Field Office 10 – media platform for farmers to be aware of aflatoxin	Visited?
	Yes %
DA media platform 1	9.7
DA Website	9.0
Brochures	14.5
Training and seminar	20.0
Radio	11.7
Television	10.3
Video streaming sites (media platform 2)	13.1
Others	11.7

3.5. Emerging patterns and insights

Based on the above findings, we observe several emerging patterns. Firstly, there is high awareness but yet there is room for improvement. While the majority of the farmers are aware or very aware of aflatoxin dangers and protocols, there remains a significant group that is unaware, indicating a need for continued and targeted efforts for awareness raising. Secondly, there is effective adoption of protocols. The high adoption rates among early and mainstream adopters demonstrate the effectiveness of the mitigation protocols, validating the theoretical insights from Health Belief Model and Social Cognitive Theory about the importance of perceived benefits and social learning. Thirdly, there is preference for Interactive Learning. The farmers show a strong preference for interactive learning methods such as training and seminars, which are most effective in rising awareness and promoting adoption. This insight suggests that future interventions should continue to develop these interactive formats. Fourthly, the role of media platforms. The varied engagement with various media platforms highlights the need for a multi-faceted communication strategy that combines traditional and digital methods to maximize reach and impact.

In view of the above analyses and emerging patterns, it provides an insightful understanding of the current state of awareness, mitigation practices, and adoption behaviors among corn farmers in Bukidnon. By integrating Health Belief Model and Social Cognitive Theory, the study offers theoretical insights that underline the importance of perceived risks, benefits, and social influences in driving awareness and adoption.

Table 5. Results of the simple linear regression analysis between corn farmers' access to media platforms and awareness of aflatoxin protocols

Таблица 5. Результаты простого линейного регрессионного анализа между доступом фермеров, выращивающих кукурузу, к медиаплатформам, и осведомленностью о протоколах контроля афлатоксина

Regression statistics	
Multiple R	0.257
R square	0.066
Adjusted R square	0.037
Standard error	0.568
Observations	34

ANOVA					
	df	SS	MS	F	Significance F
Regression	1	0.730	0.730	2.261	0.143
Residual	32	10.334	0.323		
Total	33	11.064			

	Coefficients	Standard error	t Stat	P-value	Lower 95%	Upper 95%
Intercept	1.567	0.353	4.436	0.0001	0.847	2.286
Access to media platforms	0.304	0.202	1.504	0.142	-0.108	0.715

Furthermore, the findings align with the study's objectives, demonstrating the program's strengths and identifying areas for improvement. This well-rounded examination not only evaluates the Aflatoxin Intervention Program but also contributes to the broader discourse on effective agricultural practices and food safety management.

3.6. Correlation between corn farmers' access to media platforms and awareness of aflatoxin protocols

Analysis: The data suggests a weak positive correlation between access to media platforms and awareness of aflatoxin protocols, but the correlation is not statistically significant. This indicates that merely accessing media platforms may not significantly enhance awareness of aflatoxin mitigation protocols among the farmers (Table 5).

This finding aligns with the first objective of understanding how awareness patterns of behaviors align with theoretical principles. It suggests that while media access is beneficial, other factors, possibly more interactive or targeted forms of information distribution, are necessary to significantly increase awareness.

Health Belief Model implies that perceived benefits and self-efficacy might drive awareness more than general media access. Social Cognitive Theory reinforces that observational learning and direct interaction play crucial roles. This finding suggests the need for more involving and direct educational methods.

3.7. Correlation between corn farmers' awareness of aflatoxin protocols and adoption of protocols

There is a very strong positive correlation between awareness of aflatoxin protocols and their adoption, and this correlation is statistically significant. The farmers who are more aware of protocols are significantly more likely to adopt them (Table 6).

This directly supports the second objective of analyzing farmer responses and the third objective of providing a conceptual framework. The strong correlation validates the importance of awareness in adoption of aflatoxin mitigation practices among the farmers.

Health Belief Model emphasis on perceived benefits and Social Cognitive Theory's focus on self-efficacy are evident here. Awareness clearly converts to higher adoption rates, reinforcing the importance of targeted awareness campaigns and educational interventions.

3.8. Correlation between corn farmers' access to media platforms and awareness of aflatoxin dangers

There is a weak positive correlation between access to media platforms and awareness of aflatoxin dangers, but it is not statistically significant (Table 7). This suggests that general media access alone does not significantly enhance awareness of the dangers posed by aflatoxin.

This aligns with the first objective and suggests that while media access is necessary, it is not sufficient to significantly impact awareness levels. More direct and engaging forms of information distribution are needed.

Table 6. Results of the simple linear regression analysis between corn farmers' awareness of aflatoxin protocols and adoption of protocols

Таблица 6. Результаты простого линейного регрессионного анализа между осведомленностью фермеров, выращивающих кукурузу, о протоколах контроля афлатоксина, и принятием таковых протоколов

Regression statistics	
Multiple R	0.955
R square	0.913
Adjusted R square	0.910
Standard error	0.183
Observations	34

ANOVA					
	df	SS	MS	F	Significance F
Regression	1	11.207	11.207	335.663	1.584E-18
Residual	32	1.068	0.033		
Total	33	12.275			

	Coefficients	Standard Error	t Stat	P-value	Lower 95%	Upper 95%
Intercept	0.029	0.118	0.242	0.81	-0.212	0.269
Awareness of aflatoxin mitigation protocols	1.006	0.055	18.321	1.584E-18	0.895	1.118

Table 7. Results of the simple linear regression analysis between corn farmers' access to media platforms and awareness of aflatoxin dangers

Таблица 7. Результаты простого линейного регрессионного анализа между доступом фермеров, выращивающих кукурузу, к медиаплатформам, и их осведомленностью об опасностях афлатоксина

Regression statistics						
Multiple R	0.252					
R square	0.063					
Adjusted R square	0.034					
Standard error	0.541					
Observations	34					
ANOVA						
	df	SS	MS	F	Significance F	
Regression	1	0.632	0.632	2.162	0.151	
Residual	32	9.356	0.292			
Total	33	9.988				
	Coefficients	Standard error	t Stat	P-value	Lower 95%	Upper 95%
Intercept	1.469	0.336	4.374	0.0001	0.785	2.154
Access to media platforms	0.283	0.192	1.470	0.151	-0.108	0.674

Health Belief Model highlights that perceived susceptibility and severity are critical for awareness. Social Cognitive Theory suggests that observational learning and social modeling are the key factor. These findings indicate that passive media access is less effective than interactive, direct learning experiences.

3.9. Correlation between corn farmers' access to media platforms and adoption of aflatoxin protocols

There is a weak positive correlation between access to media platforms and adoption of aflatoxin protocols, but the correlation is not statistically significant (Table 8). This suggests that media access alone does not significantly facilitate the adoption of mitigation protocols.

This finding aligns with the second and third objectives, highlighting that while media platforms play a role, other factors such as direct training and seminars are more critical in promoting adoption of the protocol among the farmers.

Health Belief Model emphasizes perceived benefits, and Social Cognitive Theory stresses the importance of self-efficacy and observational learning. This suggests that farmers need more interactive and confidence-building experiences to adopt new practices effectively.

Table 8. Results of the simple linear regression analysis between corn farmers' access to media platforms and adoption of aflatoxin protocols

Таблица 8. Результаты простого линейного регрессионного анализа между доступом фермеров, выращивающих кукурузу, к медиаплатформам, и их принятием протоколов контроля афлатоксина

Regression statistics						
Multiple R	0.257					
R square	0.066					
Adjusted R square	0.037					
Standard error	0.599					
Observations	34					
ANOVA						
	df	SS	MS	F	Significance F	
Regression	1	0.809	0.808	2.257	0.143	
Residual	32	11.466	0.358			
Total	33	12.275				
	Coefficients	Standard error	t Stat	P-value	Lower 95%	Upper 95%
Intercept	1.582	0.372	4.252	0.0001	0.824	2.339
Access to media platforms	0.319	0.213	1.502	0.142	-0.114	0.753

3.10. Correlation between corn farmers' awareness of aflatoxin dangers and adoption of aflatoxin mitigation protocols

Table 9. Correlation between corn farmers' awareness of aflatoxin dangers and adoption of aflatoxin mitigation protocols

Таблица 9. Корреляция между осведомленностью фермеров, выращивающих кукурузу, об опасности афлатоксина, и их принятием протоколов контроля афлатоксина

Regression statistics						
Multiple R	0.829					
R square	0.687					
Adjusted R square	0.677					
Standard error	0.346					
Observations	34					
ANOVA						
	df	SS	MS	F	Significance F	
Regression	1	8.427	8.427	70.084	1.449E-09	
Residual	32	3.848	0.12			
Total	33	12.275				
	Coefficients	Standard error	t Stat	P-value	Lower 95%	Upper 95%
Intercept	0.333	0.222	1.503	0.143	-0.118	0.784
Awareness of Aflatoxin danger	0.919	0.109	8.372	1.449E-09	0.695	1.142

There is a strong positive correlation between awareness of aflatoxin dangers and the adoption of mitigation protocols, and this correlation is statistically significant (Table 9). Higher awareness levels significantly predict higher adoption rates.

This strongly supports the second and third objectives. It highlights that increasing awareness of aflatoxin dangers is crucial for enhancing the adoption of aflatoxin mitigation protocols.

Health Belief Model constructs of perceived severity and benefits are validated here, showing that higher awareness translates into practical actions. While the Social Cognitive Theory emphasis on observational learning and self-efficacy also aligns with these findings, suggesting that the farmers' confidence and observational experiences facilitate their adoption behaviors.

3.11. Synthesis and emerging patterns

The analyses of Tables 5 through 9 reveal several critical patterns. First, there is weak impact of media access alone. General access to media platforms shows weak and non-significant correlations between awareness and adoption, highlighting the need for more direct, engaging forms of education and training. Second, the critical role of awareness: Tables 6 and 9 show strong, significant correlations between awareness (both of protocols and dangers) and adoption, underlining the importance of targeted awareness campaigns. Third, it is crucial to have effective engagement methods. Training and seminars, which offer interactive and observational learning opportunities, prove to be the most effective methods for raising awareness and promoting the adoption of mitigation protocols. Fourth, the validation of theoretical frameworks. The findings consistently validate the Health Belief Model and Social Cognitive Theory frameworks, emphasizing the importance of perceived severity, benefits, self-efficacy, and observational learning in driving awareness and adoption.

Given the empirical data from these tables, it supports the study's hypotheses and objectives. They underline the necessity of targeted, interactive educational strategies to enhance awareness and adoption of aflatoxin mitigation protocols. By grounding these findings in Health Belief Model and Social Cognitive Theory, the study provides a comprehensive theoretical framework that forms future interventions and contributes to the broader discourse on agricultural practices and food safety. The insights concluded from this analysis offer practical recommendations for enhancing the Aflatoxin Intervention Program and ensuring its effectiveness among corn farmers in Bukidnon, Northern Mindanao.

4. Discussion

The analysis of Tables 1 to 9 has unveiled several critical patterns and insights, each shedding light on different aspects of the Aflatoxin Intervention Program implemented by the Department of Agriculture Regional Field Office 10. These patterns not only provide empirical validation

of our hypotheses but also offer a comprehensive understanding of the program's effectiveness and finding the areas for their improvement.

4.1. Pattern of awareness

One of the most striking patterns emerging from the analysis is the high level of awareness among corn farmers regarding both the dangers of aflatoxin and the mitigation protocols. Tables 1 and 2 collectively demonstrate that a significant majority of the farmers are either “Aware” or “Very Aware” of these critical aspects, with 73.32% aware of aflatoxin dangers and 80.47% aware of mitigation protocols. This suggests that the awareness campaigns and educational efforts by the Department of Agriculture Regional Field Office 10 have been relatively successful in distributing vital information about aflatoxin. However, the persistence of unawareness among 26.68% (dangers) and 19.54% (protocols) of farmers indicates gaps that require further attention.

This finding aligns with a study by Bacani [18] in Nueva Vizcaya, Philippines, which reported a high level of awareness among corn farmers trained in Good Agricultural Practices (GAP) for aflatoxin prevention. Yet, Bacani warned that such awareness might be limited to trained farmers, this nuance echoed in our results where untrained farmers could be accounted for the “Unaware” group. Conversely, broader studies, such as those by Rustia et al. [26] and Balendres et al. [27], advocate for intensified awareness campaigns, suggesting that awareness remains inconsistent across regions and demographics. On a global scale, recent research by Gichohi-Wainaina et al. [28] in Malawi and Udomkun et al. [29] in Congo reveals persistent unawareness linked to higher aflatoxin contamination, thus substantiating the need for sustained sensitization, training, and monitoring systems.

The high awareness levels support the research hypothesis that effective educational interventions enhance the farmers' understanding of aflatoxin risks and mitigation strategies, as posited by the Health Belief Model (HBM) and Social Cognitive Theory (SCT). The 73.32% awareness of dangers aligns with HBM's emphasis on perceived severity and susceptibility, suggesting that farmers recognize aflatoxin as a significant threat. Similarly, the 80.47% awareness of protocols reflects SCT's focus on observational learning and self-efficacy, indicating that farmers are absorbing actionable knowledge from peers and experts. However, the “Unaware” minority challenges the universality of hypothesis, hinting at existence of barriers such as obstacles to access to training or socioeconomic factors that future studies should explore.

Our results partially align with Bacani [18], who found 85% awareness among trained Filipino farmers, a higher figure than our 73.32% for dangers and 80.47% for protocols, possibly due to their focus on a trained groups. In contrast, Gichohi-Wainaina et al. [28] reported only 45% awareness in Malawi, attributing lower levels to limited extension services — suggesting that the higher figures in Bukidnon reflect stronger regional efforts on raising awareness. Udomkun et al. [29] found a 85% awareness rate of Aflatoxin in Congo but majority were not aware of its risks to human health, linking unawareness to cultural practices and inadequate access to information, a disparity that underscores the effectiveness of our localized campaigns. Meanwhile, a 2022 study by Gachara et al. [30] in Kenya reported 61% awareness, but highlighted poor post-harvest protocol adoption, a potential concern for our farmers that merits further investigation.

These findings give ground to conclusions about the corn-farming communities in regions with active agricultural extension services, suggesting that structured education can elevate awareness. However, the 19.54% — 26.68% unawareness rate indicates that universal awareness is not yet achieved, possibly due to variations in training access, insufficient literacy, or resources availability. This pattern may extend to other aflatoxin-affected crops like peanuts or rice, where similar educational frameworks could yield comparable outcomes.

Practically, these results advocate for intensifying the existing awareness campaigns with targeted interventions for the “Unaware” group. Customized workshops, mobile-based education apps, and peer-led demonstrations could fill knowledge gaps, leveraging SCT's observational learning principles. Agricultural agencies could also integrate awareness metrics into monitoring systems to track progress and identify risk-exposed subgroups, thus enhancing policy effectiveness.

Future research should investigate why 19.54% — 26.68% of the farmers remain unaware, exploring factors like geographic isolation, education levels, or cultural beliefs. Comparative studies across regions could clarify the role of extension services versus community networks in awareness distribution. Additionally, longitudinal studies assessing whether high awareness translates to protocol adoption — echoing Gachara et al. [30] — would strengthen the link between knowledge and behavior, refining HBM and SCT applications in agricultural products health.

4.2. Mitigation protocol awareness

The data from Table 2 reveals that 80.47% of farmers are either “Aware” (52.45%) or “Very Aware” (28.02%) of aflatoxin mitigation protocols, with only 19.54% remaining “Unaware”. This high awareness level suggests that the applied communication strategies — like including data extension services, workshops, and community outreach by the Department of Agriculture Regional Field Office 10 — are effective in distributing actionable knowledge. This finding aligns with the principles of Social Cognitive Theory (SCT), which emphasizes the role of social influences, observational learning, and self-efficacy in shaping awareness and behavior. The substantial awareness rate underscores the importance of peer learning and community-based education, where farmers are more inclined to observe and adopt mitigation practices modeled by trained peers or agricultural experts. Furthermore, the data supports the notion that awareness of aflatoxin dangers (73.32% from Table 1) may correlate with awareness of mitigation protocols, as the farmers who perceive the risk are more inclined to seek preventive solutions.

The 80.47% awareness of mitigation protocols supports the research hypothesis that effective educational interventions enhance farmers' understanding of aflatoxin management strategies, a premise rooted in SCT. The high awareness reflects successful knowledge transfer through social networks and observational learning, being the key SCT components. This also suggests that farmers' self-efficacy — the belief in their ability to implement protocols — may be bolstered by accessible, community-driven education. However, the 19.54% “Unaware” segment indicates that the hypothesis does not fully work for all farmers, pointing to potential barriers such as limited access to training or impeded informational channels which issue require further exploration.

This result aligns closely with findings from Bacani [18] in the Philippines, where around 76% of trained corn farmers demonstrated awareness of aflatoxin prevention protocols. The slight difference (76% vs. 82%) may reflect variations in sample size or training intensity, but both studies highlight the efficacy of targeted education. Similarly, Udomkun et al. [29] in Nigeria reported that 65% of farmers aware of aflatoxin dangers also knew preventive measures, a lower figure than ours, possibly due to less comprehensive data extension services. Meanwhile, Jallow et al. [31] in the Gambia noted a relatively low (49%) awareness of the farmers of aflatoxin, where only 58% knew mitigation strategies, thus proving the link between risk awareness and protocol knowledge but the share 80.47% in Bukidnon exceeds their outcomes, likely due to more effective community engagement.

These findings can be generalized to smallholder farming communities in tropical regions where aflatoxin is a prevalent concern and extension services are active. The 80.47% awareness suggests that structured, socially reinforced education can achieve broad reach, potentially applicable to the farmers who grow other crops like peanuts or sorghum exposed to similar contamination risks. However, the 19.54% unawareness rate cautions against overgeneralization, as it may reflect context-specific challenges such as rural isolation or educational disparities.

Practically, these results advocate for scaling community-based education models that leverage peer influence and observational learning, as per SCT. Agricultural agencies could develop mobile training units or digital platforms (e. g., SMS alerts or apps) to reach the 19.54% “Unaware” farmers, enhancing accessibility. Integrating protocol awareness into existing farmer cooperatives could further amplify peer-to-peer distribution, while regular assessments could ensure sustained knowledge memorizing and identify the areas needing improvement.

Future studies should investigate the 19.54% unawareness rate, exploring factors like geographic barriers, illiteracy levels, or trust in information sources. Research could also examine whether high protocol awareness converts to actual adoption, a gap noted by Bacani [18], with the help of longitudinal studies to track behavior change. Comparative analyses across regions with varying intervention intensities could refine SCT's application in agricultural settings, while exploring the role of digital tools in awareness campaigns offers a modern research pathway.

4.3. Adoption of mitigation practices

The data from Table 3 highlights a comprehensive adoption rate of aflatoxin mitigation protocols among the farmers, with “Early Adopters” (30.59%) and “Mainstream Adopters” (51.00%) collectively comprising 81.59% of respondents, while “Late Adopters” account for 18.41%. This high adoption rate underlines the practical impact of awareness and educational programs implemented by the Department of Agriculture Regional Field Office 10. It strongly supports Hypothesis 3, which assumes that heightened awareness leads to the adoption of aflatoxin mitigation practices. The Health Belief Model (HBM) provides a theoretical approach for this outcome, suggesting that the farmers perceive significant

benefits — such as reduced crop contamination and improved health outcomes — from adopting these practices, while perceiving low entry barriers, such as cost or complexity of implementation, due to effective education and support systems.

The 81.59% adoption rate validates Hypothesis 3, illustrating a clear link between awareness (80.47% from Table 2) and behavioral change, as predicted by HBM. The model's structure of perceived benefits (e. g., safer yields) and low entry perceived barriers (e. g., accessible training) appear to drive this conversion from knowledge to action. The “Early Adopters” (30.59%) likely represent the farmers with higher self-efficacy and risk perception, quickly embracing the protocols, while “Mainstream Adopters” (51.00%) follow the pattern as social norms solidify — thus aligning with distribution of innovation theory alongside HBM. However, the 18.41% “Late Adopters” suggest that adoption is not universal, potentially due to impediments barriers or insufficient motivation, that requires further investigation.

This adoption rate aligns with findings from Bacani [18] in the Philippines, where 76% of aware corn farmers adopted Good Agricultural Practices (GAP) for aflatoxin control, closely mirroring 81.59% in Bukidnon. The slight difference may stem from our broader sampling in Bukidnon versus their focusing on trained farmers only. In contrast, Gachara et al. [30] in Kenya reported a low adoption rate among aware farmers, attributing the gap to resource scarcity and poor infrastructure — suggesting that Bukidnon higher rate reflects better support systems.

These results can be generalized to smallholder farming communities in regions with active agricultural extension services and aflatoxin risks, such as Southeast Asia or Sub-Saharan Africa. The 81.59% adoption rate suggests that well-implemented awareness campaigns, paired with accessible resources, can drive widespread practice uptake across similar agroecological zones. However, the 18.41% “Late Adopters” indicate that socio-economic or cultural factors may limit universality, thus necessitating context-specific adaptations.

Practically, these findings claim for intensifying the educational programs with hands-on demonstrations and subsidies to convert “Late Adopters” into mainstream users, leveraging HBM's focus on reducing barriers. Agricultural agencies could establish model farms showcasing mitigation benefits to enhance perceived efficacy, while peer-led training within community cooperatives could accelerate adoption among the hesitant farmers. Monitoring systems tracking adoption rates over time could also inform policy adjustments, ensuring long-term sustainability.

Future research should explore why 18.41% of farmers remain “Late Adopters,” examining the barriers such as cost, access to materials, or trust in protocols. Longitudinal studies could assess whether adoption persists or wanes. Comparative analyses across regions with differing intervention models could refine HBM's application, while investigating the role of digital tools (e. g., apps for protocol guidance) offers a modern research frontier. Additionally, exploring the economic impact of adoption — such as harvest yield improvements or better market access — could strengthen the case for scaling these practices.

4.4. Effectiveness of media platforms

The analysis of Table 4 provides valuable insights into the effectiveness of various media platforms in distributing aflatoxin-related information to the farmers under the Department of Agriculture Regional Field Office 10. Training and seminars lead as the most visited platform (20.0%), followed by brochures (14.5%) and video streaming sites (media platform 2) (13.1%). Other platforms, such as radio (11.7%), television (10.3%), the DA media platform 1 (9.7%), and the DA Website (9.0%), show lower engagement, with “Others” at 11.7%. This pattern highlights the farmers' preference for interactive, detailed, and accessible learning methods over passive or less targeted media. Training and seminars likely offer hands-on guidance and peer interaction, while brochures provide tangible, concise references, and video streaming sites deliver visual, on-demand content. These findings suggest that future interventions should prioritize these high-impact formats to maximize engagement and awareness, supporting a multi-dimensional approach that integrates training with getting information from broader media like radio and TV, as recommended by Jallow et al. [31].

The prominence of training and seminars (20.0%) aligns with the research hypothesis that effective distribution channels enhance aflatoxin awareness and adoption, reflecting Social Cognitive Theory (SCT) principles of observational learning and self-efficacy. The farmers' preference for interactive platforms suggests these methods successfully reinforce knowledge retention and practical application. The lower engagement with digital platforms like the DA media platform 1 (9.7%) and Website (9.0%) may indicate the availability of hindering barriers such as limited internet access or digital illiteracy, partially challenging the hypothesis's

universality and highlighting the need for customized methods of data delivery.

Future studies should investigate why digital platforms (DA media platform 1, Website) underperform (9.0% — 9.7%), should explore the hindering barriers like issues with connectivity, illiteracy, or content relevance. Research could compare the cost-effectiveness of seminars versus social media, building on Sandeep et al. [32] where 64% of respondents perceived information content on social media is good, to optimize resource allocation. Longitudinal studies assessing how media preferences evolve with digital adoption could refine strategies, while testing hybrid models (e. g., radio plus training) could enhance multi-dimensional approaches. Exploring farmer feedback on platform usability would further tailor interventions.

4.5. Weak impact of media access alone

Tables 5, 7, and 8 reveal that general access to media platforms alone has a weak and statistically non-significant effect on enhancing awareness of aflatoxin protocols ($R^2 = 0.066$, $p = 0.143$), awareness of aflatoxin dangers ($R^2 = 0.063$, $p = 0.151$), and adoption of aflatoxin mitigation protocols ($R^2 = 0.066$, $p = 0.143$). The low R^2 values (0.063–0.066) indicate that media access explains only about 6% of the variance in these outcomes, while the p -values above 0.05 confirm the lack of statistical significance. This suggests that while media access provides a necessary foundation for information distribution, it is insufficient on its own to substantially elevate awareness or drive adoption behaviors. The findings underline the need for more direct, engaging, and context-specific methods — such as training and seminars (noted in Table 4) — to complement exposure to passive media.

These results partially challenge the research hypothesis that media access significantly enhances awareness and adoption, as posited by frameworks like the Social Cognitive Theory (SCT) or Health Belief Model (HBM). The weak correlations (Multiple $R = 0.252$ – 0.257) suggest that mere availability of media platforms does not convert into effective learning or behavior change, contradicting assumptions that access alone fosters observational learning (SCT) or perceived benefits (HBM). Instead, the data imply that the quality, interactivity, and relevance of media content — or supplementary interventions — are critical mediators, only when media is paired with active engagement strategies.

4.6. Strong correlation between awareness and adoption

Tables 6 and 9 demonstrate strong, statistically significant correlations between awareness (of both aflatoxin protocols and dangers) and the adoption of mitigation protocols. Table 6 shows an exceptionally high correlation between awareness of protocols and adoption (Multiple $R = 0.955$, $R^2 = 0.913$, $p = 1.584E-18$), indicating that 91.3% of the variance in adoption is explained by protocol awareness. Similarly, Table 9 reveals a strong correlation between awareness of aflatoxin dangers and adoption (Multiple $R = 0.829$, $R^2 = 0.687$, $p = 1.449E-09$), accounting for 68.7% of the variance. These findings provide compelling empirical support for Hypotheses 1 and 3, which posit that higher awareness levels—whether of risks or preventive measures — convert into practical actions. This insight reinforces the critical role of targeted awareness campaigns that effectively communicate both the dangers of aflatoxin and the benefits of aflatoxin mitigation practices, aligning with the Health Belief Model (HBM) and Social Cognitive Theory (SCT).

The strong correlations ($R^2 = 0.913$ and 0.687) robustly validate Hypotheses 1 and 3, confirming that awareness is a key driver of adoption behavior. The near-perfect correlation in Table 6 ($R^2 = 0.913$) suggests that understanding aflatoxin mitigation protocols directly empowers the farmers to act, reflecting HBM's emphasis on perceived benefits and SCT's focus on self-efficacy. The slightly lower but still substantial correlation in Table 9 ($R^2 = 0.687$) indicates that risk awareness (perceived severity and susceptibility, per HBM) also motivates adoption, though less comprehensively than protocol knowledge, possibly due to a need for actionable guidance. These results highlight that awareness campaigns succeed when they bridge knowledge and practice, supporting the study's theoretical framework.

4.7. Preference for interactive learning

The data from Table 4 reveals a clear preference for interactive learning methods among farmers, with training and seminars leading as the most visited media platform at 20.0%, significantly outpacing other options such as brochures (14.5%), video streaming sites (13.1%), radio (11.7%), television (10.3%), the DA media platform 1 (9.7%), and the DA Website (9.0%). This high engagement rate with training and seminars underscores farmers' inclination toward formats that offer direct interaction, opportunities to observe experts and peers, and hands-on guidance. These settings align with the Social Cognitive Theory (SCT), which

emphasizes observational learning, modeling, and self-efficacy as drivers of behavior change. Farmers participating in these sessions likely gain confidence to adopt mitigation practices (as evidenced by the 81.59% adoption rate in Table 3), highlighting the pivotal role of interactive learning in converting awareness into action.

The 20.0% engagement with training and seminars may imply that effective distribution methods enhance awareness and adoption, with interactive platforms proving superior. SCT's focus on observational learning is evident, as the farmers are likely to model behaviors observed during training, while the hands-on in-kind training boosts self-efficacy — being the key to adopting complex protocols. The lower engagement with passive platforms (e. g., DA Website at 9.0%) suggests that static or less interactive media fail to inspire similar confidence or motivation, supporting the hypothesis that data delivery mode matters. This preference aligns with the study's broader findings of strong awareness-adoption correlations (Tables 6 and 9), where interactive learning likely underpins the knowledge-to-action pathway.

4.8. Validation of theoretical frameworks

The empirical patterns emerging from this study — i. e. spanning awareness (Tables 1, 2), adoption (Table 3), media effectiveness (Table 4), and regression analyses (Tables 5–9) — consistently validate the theoretical frameworks of the Health Belief Model (HBM) and Social Cognitive Theory (SCT). HBM posits that perceived severity (e. g., aflatoxin dangers) and benefits (e. g., aflatoxin mitigation protocols) drive awareness and adoption behaviors, while SCT emphasizes observational learning (e. g., via training) and self-efficacy (e. g., confidence to act) as key mechanisms. The data aligns robustly with these theories, offering a solid foundation for understanding the dynamics of aflatoxin management among corn farmers and reinforcing their applicability in agricultural health interventions.

The results strongly support the study's hypotheses. For Hypothesis 1 (awareness of dangers leads to adoption), Table 9 shows a significant correlation ($R^2 = 0.687$, $p = 1.449\text{E-}09$), reflecting HBM's premise that perceived severity (73.32% aware, Table 1) motivates action (81.59% adoption, Table 3). Hypothesis 3 (awareness of protocols drives adoption) is even more emphatically validated by Table 6 ($R^2 = 0.913$, $p = 1.584\text{E-}18$), aligning with HBM's perceived benefits and SCT's self-efficacy, as 80.47% protocol awareness (Table 2) converts to practice. The preference for training (20.0%, Table 4) and weak media access impact ($R^2 = 0.063\text{--}0.066$, Tables 5, 7, 8) further support SCT's observational learning, as interactive methods outperform passive exposure to information. These alignments confirm that HBM and SCT effectively explain the awareness-adoption nexus, though the 19.54% — 26.68% unawareness (Tables 1, 2) and 18.41% late adopters (Table 3) suggest incomplete spreading of information, thus tempering universality.

4.9. Implications for the aflatoxin intervention program

The insights from this analysis — spanning awareness (Tables 1, 2), adoption (Table 3), media effectiveness (Table 4), and regression analyses (Tables 5–9) — carry significant implications for the Aflatoxin Intervention Program under the Department of Agriculture Regional Field Office 10. The high awareness levels (73.32% for dangers, Table 1; 80.47% for protocols, Table 2) and adoption rates (81.59%, Table 3) suggest that the program's outreach and educational efforts have been highly effective, particularly through interactive channels like training and seminars (20.0%, Table 4). However, the weak impact of general media access ($R^2 = 0.063\text{--}0.066$, $p > 0.05$, Tables 5, 7, 8) underlines a critical limitation, highlighting the need for more targeted, engaging, and context-specific communication strategies to complement broad media distribution.

The high awareness and adoption rates confirm Hypotheses 1 and 3, which posit that awareness of aflatoxin dangers and protocols drives aflatoxin mitigation practice uptake, as evidenced by strong correlations ($R^2 = 0.687$, Table 9; $R^2 = 0.913$, Table 6). This suggests the program successfully leverages Health Belief Model (HBM) principles — perceived severity and benefits — and Social Cognitive Theory (SCT) mechanisms — observational learning and self-efficacy — via effective training (Table 4). Conversely, the negligible effect of media access challenges any hypothesis assuming that passive distribution of data is sufficient (e. g., implied in Section 4.5), indicating that success hinges on active engagement rather than availability alone. The 19.54% — 26.68% unawareness (Tables 1, 2) and 18.41% late adopters (Table 3) further suggest that while the program excels for most, gaps remain, thus necessitating for targeted approaches.

4.10. Future Interventions

The findings from this study — high awareness (73.32% for dangers, Table 1; 80.47% for protocols, Table 2), general adoption (81.59%, Table 3), and preference for training (20.0%, Table 4) — suggest that future interven-

tions under the Aflatoxin Intervention Program should prioritize interactive and community-based learning methods, such as training and seminars, which have proven most effective. However, the 26.68% unaware of dangers and 19.54% unaware of protocols (Tables 1, 2), alongside 18.41% late adopters (Table 3), indicate a critical gap. Efforts must focus on reaching this approximately 20% of the farmers who remain uninformed or unengaged. A study on aflatoxin awareness in chili farming by Akintola et al. [16] highlights fragmented understanding of aflatoxin factors, mirroring our unawareness gaps and underlining the need for targeted educational programs and comprehensive public health initiatives. Customized interventions addressing specific barriers — such as lack of access, illiteracy, or trust — can bridge this gap and enhance overall program impact.

Future interventions should scale training and seminars (20.0%, Table 4), deploying mobile units to reach the 19.54% — 26.68% unaware (Tables 1, 2) and 18.41% late adopters (Table 3), leveraging SCT's observational learning. Tailored programs — e. g., simplified materials for low-literacy farmers or community-led sessions addressing the issue — could target this 20%, per HBM's focus on hindering barriers. Enhancing underused channels like video streaming (13.1%) with short, protocol-focused content or return to using the radio (11.7%) with farmer stories could complement training, addressing the weak media impact (Tables 5, 7, 8). Public health initiatives, as suggested by Akintola et al. [16], could integrate aflatoxin education into broader campaigns, this way ensuring comprehensive reach.

Research should investigate the 20% unawareness/adoption gap, exploring hindering barriers like geographic isolation or knowledge fragmentation, building on Akintola et al. [16]. Longitudinal studies could test if training sustains impact, while comparative analyses with digital-focused programs (e. g., Sandeep et al. [32]) could assess scalability. Qualitative studies on the farmer needs could refine tailoring, and testing hybrid models (e. g., seminars plus digital tools) could optimize outreach, addressing Udomkun et al. [29] multi-channelled supply of information. Exploring economic incentives for adoption could further enhance intervention design.

4.11. Comprehensive understanding

This analysis provides a nuanced and insightful understanding of the current state of aflatoxin management among corn farmers in Bukidnon, Philippines, under the Aflatoxin Intervention Program by the Department of Agriculture Regional Field Office 10. The study's empirical data are as follows — high awareness levels (73.32% for dangers, Table 1; 80.47% for protocols, Table 2), rational adoption rates (81.59%, Table 3), and strong awareness-adoption correlations ($R^2 = 0.687\text{--}0.913$, Tables 6, 9) — highlight the program's strengths in fostering knowledge and practice uptake through interactive methods like training and seminars (20.0%, Table 4). Simultaneously, it identifies critical areas for improvement, such as the persistent 19.54%–26.68% unawareness group (Tables 1, 2), 18.41% late adopters (Table 3), and the weak impact of general media access ($R^2 = 0.063\text{--}0.066$, $p > 0.05$, Tables 5, 7, 8). By integrating theoretical frameworks — Health Belief Model (HBM) and Social Cognitive Theory (SCT) — with these findings, the study offers the implementable recommendations to enhance the program's effectiveness, balancing its successes with strategies to cope with its shortcomings.

4.12. Contribution to the broader discourse

This study contributes significantly to the broader discourse on food safety and agricultural practices by offering a theoretically grounded and empirically comprehensive examination of the Aflatoxin Intervention Program in Bukidnon, Northern Mindanao, under the supervision of the Department of Agriculture Regional Field Office 10. The findings — drawn from Tables 1–9 — underline the pivotal role of targeted awareness campaigns, interactive learning methods (e. g., training at 20.0%, Table 4), and community-based education in facilitating the adoption of health-promoting behaviors, such as aflatoxin mitigation practices (81.59% adoption, Table 3). Anchored in the Health Belief Model (HBM) and Social Cognitive Theory (SCT), the analysis highlights how perceived severity, benefits, observational learning, and self-efficacy shape farmer responses, providing a model for addressing mycotoxin contamination globally. However, the persistent 19.54% — 26.68% unawareness (Tables 1, 2) and weak media access impact ($R^2 = 0.063\text{--}0.066$, Tables 5, 7, 8) reveal gaps not covered with this discourse, thus emphasizing the need for active engagement over mere exposure or demonstration.

4.13. Conceptual framework for enhanced aflatoxin management

The insights and patterns emerging from the analysis of Tables 1 to 9 provide a reliable foundation for developing a conceptual framework aimed at enhancing the Aflatoxin Intervention Program in Bukidnon, Northern Mindanao. The empirical data reveals high awareness levels

(73.32% for aflatoxin dangers, Table 1; 80.47% for aflatoxin mitigation protocols, Table 2) and their adoption rates (81.59%, Table 3), driven by interactive methods like training (20.0%, Table 4) and strong awareness-adoption correlations ($R^2 = 0.687-0.913$, Tables 6, 9). However, uncovered gaps persist: 19.54% – 26.68% remain unaware (Tables 1, 2), 18.41% are late adopters (Table 3), and general media access has a weak impact ($R^2 = 0.063-0.066$, Tables 5, 7, 8). By integrating these findings with the theoretical underpinnings of the Health Belief Model (HBM) and Social Cognitive Theory (SCT), the conceptual framework (Figure 1) systematically addresses the critical components of awareness, aflatoxin mitigation, and adoption behaviors among corn farmers.

This framework is designed to provide a structured, evidence-based approach for future interventions, emphasizing targeted awareness campaigns, effective media and communication strategies, and continuous feedback obtaining mechanisms. The strong correlations between awareness and adoption validate HBM's principles of perceived severity, susceptibility, benefits, and barriers, as well as SCT's focus on observational learning, self-efficacy, and social modeling. For instance, the preference for training (20.0%, Table 4) reflects SCT's observational learning, while high adoption (81.59%) aligns with HBM's perceived benefits. The framework leverages these insights to guide the Department of Agriculture

Regional Field Office 10 in refining strategies, addressing the 20% unawareness gap, and ensuring sustained success in aflatoxin management, ultimately enhancing corn safety in Northern Mindanao.

4.14. Applying the conceptual framework

The conceptual framework (Figure 1) offers a structured road map for future interventions by the Department of Agriculture Regional Field Office 10, ensuring a holistic approach to managing aflatoxin contamination. It prioritizes five interconnected constructs: Awareness, Theoretical Underpinnings (HBM and SCT), Media and Communication Strategies, Adoption of Mitigation Protocols, and Outcomes and Feedback Mechanisms. By focusing on awareness (73.32% – 80.47%, Tables 1, 2), the framework ensures the farmers understand both the risks and solutions, targeting the 20% unawareness gap through targeted education. Leveraging effective communication strategies, such as training (20.0%, Table 4) over passive media (e. g., 9.7% for DA Facebook, Table 4), demonstrates more efficiency than the weak media impact (Tables 5, 7, 8), aligning with SCT's emphasis on engagement. The theoretical underpinnings guide intervention design – HBM informs risk messaging, while SCT shapes interactive learning – this way ensuring that the behavior change is both motivated and feasible.

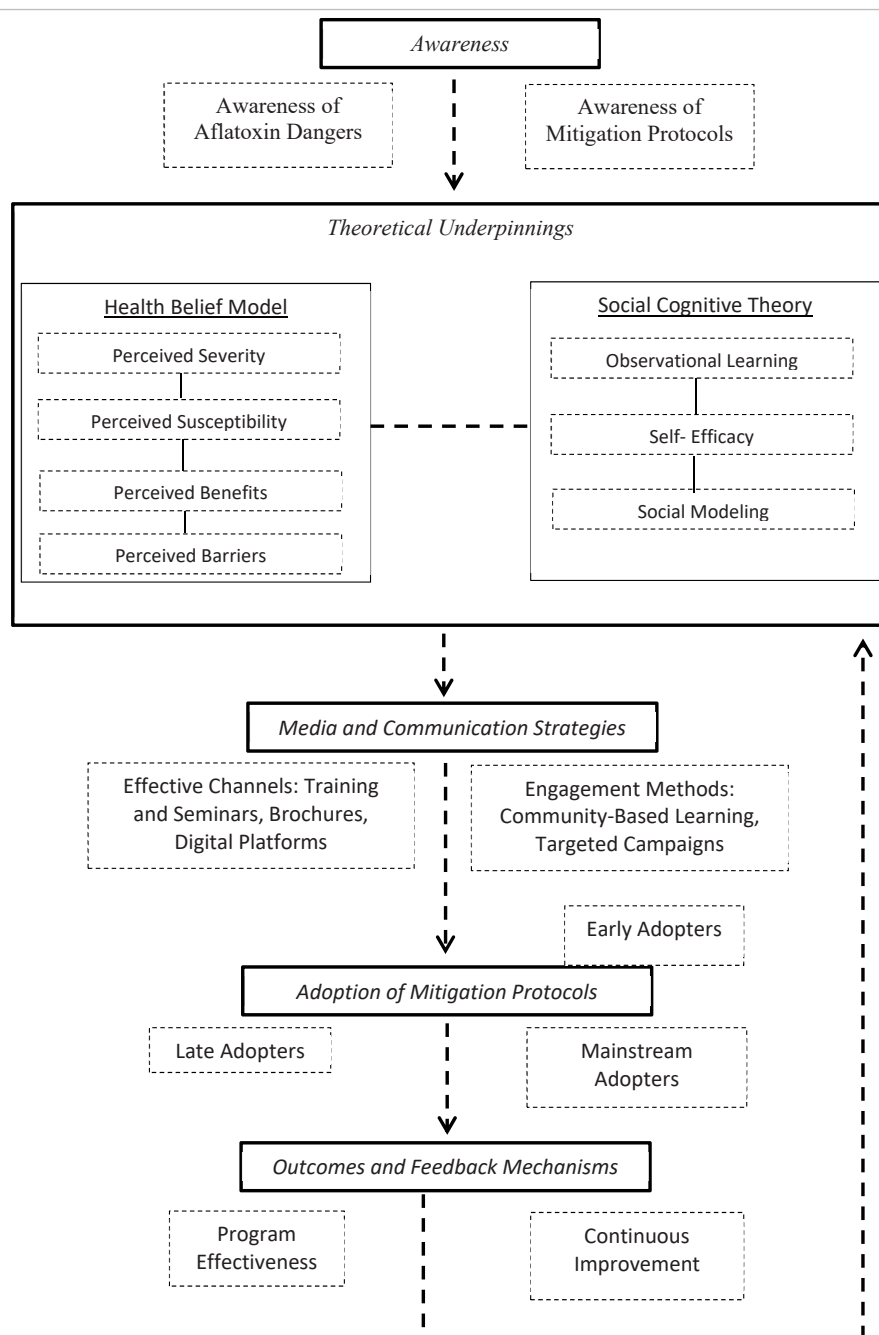


Figure 1. Conceptual framework for enhanced aflatoxin management

Рисунок 1. Концептуальная схема для улучшенного контроля содержания афлатоксина

The framework also emphasizes continuous feedback and improvement, enabling the program to adapt dynamically. For instance, assessing program effectiveness (e. g., adoption rates, Table 3) and gathering farmer feedback can refine strategies, ensuring they address evolving needs, such as reaching late adopters (18.41%, Table 3). This holistic approach not only enhances the program's impact on aflatoxin contamination management but also contributes to broader food safety goals by fostering sustainable practices among corn farmers in Bukidnon.

4.15. How does the conceptual framework work?

The conceptual framework (Figure 1) operates through five major constructs, each with sub-components, systematically addressing aflatoxin management by integrating empirical data and theoretical principles.

4.15.1. Awareness

This construct has two components:

- ❑ **Awareness of aflatoxin dangers:** With 73.32% of farmers aware (Table 1), this focuses on knowledge of health risks and contamination levels, emphasizing perceived severity (e. g., health impacts) and susceptibility (e. g., crop vulnerability), via HBM. The 26.68% unawareness highlights the need for intensified risk communication.
- ❑ **Awareness of aflatoxin mitigation protocols:** At 80.47% (Table 2), this ensures farmers know actionable strategies (e. g., proper drying, storage), driven by HBM's perceived benefits. The 19.54% unawareness underscores the need for broader distribution, particularly for late adopters (18.41%, Table 3).

4.15.2. Theoretical underpinnings

The framework's theoretical pillars are HBM and SCT, with interconnected components (as shown by the connecting line in Figure 1):

❑ **Health belief model (HBM):**

- **Perceived severity:** Farmers' recognition of aflatoxin's serious risks (73.32% aware, Table 1) drives action, as validated by the adoption correlation ($R^2 = 0.687$, Table 9).
- **Perceived susceptibility:** Awareness of contamination likelihood motivates aflatoxin mitigation, though the 26.68% unaware (Table 1) suggest gaps in risk perception.
- **Perceived benefits:** High protocol awareness (80.47%, Table 2) reflects belief in aflatoxin mitigation efficacy, strongly linked to adoption ($R^2 = 0.913$, Table 6).
- **Perceived barriers:** The 18.41% late adopters (Table 3) indicate barriers like access or trust, which interventions must address. The internal lines in the HBM box (Figure 1) show how these constructs interplay — e. g., higher perceived severity increases perceived benefits, reducing barriers to adoption.

❑ **Social cognitive theory (SCT):**

- **Observational learning:** Training (20.0%, Table 4) enables farmers to learn from peers and experts, driving adoption (81.59%, Table 3).
- **Self-efficacy:** High adoption reflects confidence in applying protocols, bolstered by interactive learning (Table 4).
- **Social modeling:** Community leaders and peers in seminars model best practices, enhancing uptake, as seen in early adopters (30.59%, Table 3). The internal lines in the SCT box (Figure 1) illustrate their interplay — e. g., observational learning boosts self-efficacy, reinforced by social modeling.

The line connecting HBM and SCT in Figure 1 highlights their integration: HBM motivates through risk perception, while SCT facilitates action through learning and confidence, together forming a comprehensive theoretical foundation.

4.15.3. Media and communication strategies

This construct addresses distribution with two components:

- ❑ **Effective channels:** Training (20.0%), brochures (14.5%), and video streaming (13.1%, Table 4) outperform passive media (e. g., 9.7% for DA Facebook), aligning with SCT's engagement focus. The weak media access impact ($R^2 = 0.063–0.066$, Tables 5, 7, 8) substantiates the need for interactive channels.
- ❑ **Engagement methods:** Community-based learning and targeted campaigns, leveraging local leaders, foster supportive environments, as evidenced by training's success (Table 4).

4.15.4. Adoption of mitigation protocols

This construct categorizes adoption dynamics:

- ❑ **Early adopters** (30.59%, Table 3): Quick to implement protocols, likely due to high self-efficacy (SCT) and perceived benefits (HBM).
- ❑ **Mainstream adopters** (51.00%, Table 3): The majority, adopting after observing early success, reflecting social modeling (SCT).

- ❑ **Late adopters** (18.41%, Table 3): Require targeted interventions to overcome hindering barriers (HBM), such as issues with access or trust issues.

4.15.5. Outcomes and feedback mechanisms

This ensures program sustainability:

- ❑ **Program effectiveness:** High adoption (81.59%) reduces contamination, but the 20% unawareness gap (Tables 1, 2) indicates the areas subject for improvement.
- ❑ **Continuous improvement:** Feedback mechanisms (e. g., farmer surveys, adoption tracking) enable iterative refinement, addressing gaps like late adopters (Table 3).

The framework's flow — from awareness to adoption, supported by theory and communication, with feedback loops — ensures a dynamic, evidence-based approach to aflatoxin management.

4.15.6. Why is the conceptual framework important?

The conceptual framework provides a comprehensive, theoretically sound, and practically effective approach to enhancing the Aflatoxin Intervention Program. By focusing on critical components — awareness (Tables 1, 2), adoption (Table 3), and communication (Table 4) — it ensures the program reduces aflatoxin contamination while addressing gaps like the 20% unawareness (Tables 1, 2). Its integration of HBM and SCT bridges theoretical insights with empirical findings, validating their applicability ($R^2 = 0.687–0.913$, Tables 6, 9) and filling literature gaps, such as Akintola et al. [16] call for targeted education. The framework offers insights into communication efficacy — training's dominance (20.0%, Table 4) versus passive media's weakness (Tables 5, 7, 8) — and behavior drivers, advancing global food safety discourse.

For the Department of Agriculture, particularly Regional Field Office 10, the framework serves as a practical guide, identifying training and community-based methods as key to raising awareness (80.47% for protocols) and adoption (81.59%), per Sections 4.7 and 4.9. It ensures efficient resource allocation by prioritizing high-impact strategies (e. g., scaling seminars) and addressing the 18.41% late adopters (Table 3) with customized interventions. The emphasis on community leaders and peer educators fosters a supportive learning environment, enhancing reach and impact, as seen in SCT-driven training success (Section 4.7).

The framework's focus on continuous feedback mechanisms ensures adaptability, allowing the program to evolve along with the farmers' needs — e. g., refining digital strategies (13.1% video use, Table 4) to match Sandeep et al. [32] 39% success. This dynamic approach contrasts with static programs which saw low adoption rate due to poor follow-up, highlighting the framework's strength. Overall, the framework contributes to agricultural practices and food safety by offering a structured, evidence-based model for aflatoxin management in Bukidnon. It aligns with global findings (e. g., Gichohi-Wainaina et al. [28] and Gachara et al. [30]) while providing practical recommendations — scaling interactive learning, targeting the unaware group, and integrating feedback for sustainable success in Northern Mindanao and beyond.

5. Conclusion

The analysis of aflatoxin management among corn farmers in Bukidnon, Northern Mindanao, under the aegis of the Aflatoxin Intervention Program, conducted by the Department of Agriculture Regional Field Office 10, provides a comprehensive and empirically grounded understanding of awareness, adoption, and communication dynamics. The study's findings — high awareness levels (73.32% for dangers, Table 1; 80.47% for protocols, Table 2), wide adoption rates (81.59%, Table 3), and strong awareness-adoption correlations ($R^2 = 0.687–0.913$, Tables 6, 9) — demonstrate the program's effectiveness in leveraging interactive methods like training (20.0%, Table 4) and aligning with the Health Belief Model (HBM) and Social Cognitive Theory (SCT). These results prove the Hypotheses 1 and 3, confirming that awareness drives aflatoxin mitigation behaviors when supported by perceived severity, benefits, observational learning, and self-efficacy.

However, the analysis also reveals critical gaps: 19.54% — 26.68% of the farmers still remain unaware (Tables 1, 2), 18.41% are late adopters (Table 3), and general media access provides a weak impact ($R^2 = 0.063–0.066$, Tables 5, 7, 8). These findings underline the limitations of passive distribution and the need for targeted, engaging strategies. The proposed conceptual framework (Section 4.13–4.16) integrates these insights with HBM and SCT, offering a structured approach to enhance the program by coping with unawareness, optimizing communication, and ensuring continuous improvement. This study contributes to the global discourse on food safety by providing a replicable model for mycotoxin management, while identifying areas for clarification in order to ensure inclusivity and sustainability in Northern Mindanao's corn production.

6. Recommendations

6.1. Project level

At the project level, immediate actions should focus on enhancing the Aflatoxin Intervention Program's outreach to cover the 19.54%–26.68% unaware farmers (Tables 1, 2) and 18.41% late adopters (Table 3). First, it is feasible to deploy mobile training units to scale the successful seminar model (20.0%, Table 4), this way targeting remote areas with hands — on sessions that leverage peer modeling and expert guidance, aligning with SCT's observational learning. Second, develop customized educational materials — such as simplified brochures (14.5%, Table 4) or short, protocol-focused media platform 2 videos (13.1%, Table 4) — aimed to reach low-literacy or digitally challenged farmers, addressing HBM's perceived barriers. Third, establish pilot projects with community leaders to facilitate social modeling (SCT), encouraging early adopters (30.59%, Table 3) to mentor late adopters, ensuring a supportive learning environment. These efforts should include regular monitoring to assess impact, refining project design based on the farmers' feedback to maximize effectiveness.

6.2. Program level

At the program level, the Department of Agriculture Regional Field Office 10 should institutionalize a holistic strategy to sustain and scale the program's success. First, integrate aflatoxin education into broader public health and agricultural extension initiatives, building on the 81.59% adoption rate (Table 3) to address contamination across Northern Mindanao, as suggested by Akintola et al. [16]. Second, enhance insufficiently used media channels — radio (11.7%), television (10.5%), and digital platforms (9.7% — 13.1%, Table 4) with farmer-centric content (e. g., Q&A segments, offline-accessible videos) to overcome the weak media impact

(Tables 5, 7, 8), aligning with HBM's perceived benefits focus. Third, it is necessary to establish a continuous feedback mechanism, involving the farmers' surveys and measures adoption tracking, to adapt strategies dynamically, targeting the 20% unaware group (Tables 1, 2). This should include partnerships with local cooperatives to reinforce community-based learning, ensuring long-term program resilience and scalability across the similar agroecological zones.

6.3. Direction of future studies

The synthesis of future research directions obtained from the enhancements suggests a multi-faceted approach to deepen the understanding and to improve aflatoxin management. First, it is required to investigate the 20% unawareness share and late adoption group (Tables 1–3), exploring the hindering barriers such as geographic isolation, issues with literacy, lack of trust, or knowledge fragmentation, basing on Akintola et al. [16] conclusions. Second, to conduct longitudinal studies to assess the sustainability of high awareness (80.47%) group and adoption (81.59%) group rates, evaluating whether interactive methods (e. g., training at 20.0%, Table 4) still maintain due impact over time. Third, it is necessary to perform comparative analyses with digital-focused interventions (e. g., Sandeep et al. [32], with 39% social media engagement) to integrate scalable technologies into the current framework, addressing the 9.7%–13.1% of digital uptake (Table 4). Fourth, it is feasible to conduct qualitative studies to explore the farmers' perceptions of HBM constructs (e. g., severity, benefits) and SCT mechanisms (e. g., self-efficacy, social modeling), and to clarify the intervention concept design. Finally, to test the hybrid communication models (e. g., seminars plus radio, per Jallow et al. [31]) in order to optimize the informational coverage, ensuring that the framework adapts to evolving needs and contributes to global food safety discourse.

REFERENCES

- Kumar, A., Pathak, H., Bhadauria, S., Sudan, J. (2021). Aflatoxin contamination in food crops: Causes, detection, and management: A review. *Food Production, Processing and Nutrition*, 3, Article 17. <https://doi.org/10.1186/s43014-021-00064-y>
- Ortega-Beltran, A., Bandyopadhyay, R. (2021). Contributions of integrated aflatoxin management strategies to achieve the sustainable development goals in various African countries. *Global Food Security*, 30, Article 100559. <https://doi.org/10.1016/j.gfs.2021.100559>
- Joutsjoki, V. V., Korhonen, H. J. (2021). Management strategies for aflatoxin risk mitigation in maize, dairy feeds, and milk value chains — Case study Kenya. *Food Quality and Safety*, 5(1), Article fyab005. <https://doi.org/10.1093/fqsafe/fyab005>
- Nazareth, T. D. M., Pérez, E. S., Luz, C., Meca, G., Quiles, J. M. (2024). Comprehensive review of aflatoxin and ochratoxin A dynamics: Emergence, toxicological impact, and advanced control strategies. *Foods*, 13, Article 1920. <https://doi.org/10.3390/foods13121920>
- Bunny, S. M., Umar, A., Bhatti, H. S., Honey, S. F. (2024). Aflatoxin risk in the era of climatic change — A comprehensive review. *CABI Agriculture and Bioscience*, 5(1), Article 105. <https://doi.org/10.1186/s43170-024-00305-3>
- Alameri, M. M., Kong, A. S.-Y., Aljaafari, M. N., Ali, H. A., Eid, K., Sallagi, M. A. et al. (2023). Aflatoxin contamination: An overview on health issues, detection, and management strategies. *Toxins*, 15(4), Article 246. <https://doi.org/10.3390/toxins15040246>
- Department of Agriculture, Bureau of Agriculture and Fisheries Standards. (2018). Philippine National Standard (PNS) code of practice for the prevention and reduction of aflatoxin contamination in corn (PNS/BAFPS27:2008 ICS65.020.20). Retrieved from <http://spsissuances.da.gov.ph/images/DAPNS/PNS-BAFPS27-2008-CodeofPracticeforthePreventionandReductionofAflatoxinContaminationinCorn/> Accessed February 28, 2025.
- Department of Trade and Industry. (2019). DTI approves PNS code of practice against aflatoxin contamination in corn. Retrieved from <https://www.dti.gov.ph/archives/news-archives/dti-approves-pns-code-of-practice-against-aflatoxin-contamination-in-corn/> Accessed April 10, 2019.
- Rosenstock, I. M. (1966). Why people use health services. *The Milbank Quarterly*, 44(3), 94–127.
- Hochbaum, G. M. (1956). Why people seek diagnostic X-rays. *Public Health Reports*, 71(4), 377–380.
- Kegeles, S. S. (1963). Some motives for seeking preventive dental care. *Journal of the American Dental Association*, 67(1), 90–98. <https://doi.org/10.14219/jada.archive.1963.0231>
- Leventhal, H., Meyer, D., Nerenz, D. (1980). The common sense representation of illness danger. Chapter in a book: Contributions to medical psychology. New York: Pergamon Press, 1980.
- Bandura, A. (1977). Social learning theory. Englewood Cliffs, NJ: Prentice-Hall, 1977.
- Shabeer, S., Asad, S., Jamal, A., Ali, A. (2022). Aflatoxin contamination, its impact and management strategies: An updated review. *Toxins*, 14(5), Article 307. <https://doi.org/10.3390/toxins14050307>
- Olaitan, O. Z., Indabo, S. S., Ahmed, H. O., Aliyu, A., Muhammad, H. U., Sakariyahu, S. K. Et al. (2024). Surveillance of aflatoxin levels in maize (*Zea mays* L.) grains sold in some major markets of Kaduna State, Nigeria. *Environmental Technology and Science Journal*, 15(1), 14–22. <https://doi.org/10.4314/etsj.v15i1.2>
- Akintola, A., Al-Dairi, M., Imtiaz, A., Al-Bulushi, I. M., Gibreel, T., Al-Sadi, A. M. et al. (2024). The extent of aflatoxin B1 contamination in chili (*Capsicum an-*
- num L.) and consumer awareness and knowledge of aflatoxins in Oman. *Agriculture*, 14(9), Article 1536. <https://doi.org/10.3390/agriculture14091536>
- Kumar, P., Mahato, D. K., Kamle, M., Mohanta, T. K., Kang, S. G. (2017). Aflatoxins: A global concern for food safety, human health and their management. *Frontiers in Microbiology*, 7, Article 2170. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.02170>
- Bacani, J. B. (2022). Awareness and compliance of corn farmers to good agricultural practices (GAPs) in Nueva Vizcaya, Philippines. *International Journal of Environmental and Rural Development*, 13(2), 91–98.
- Haines, A., Kuruvilla, S., Borchert, M. (2004). Bridging the implementation gap between knowledge and action for health. *Bulletin of the World Health Organization*, 82(10), 724–731.
- Kietzmann, J. H., Hermkens, K., McCarthy, I. P., Silvestre, B. S. (2011). Social media? Get serious! Understanding the functional building blocks of social media. *Business Horizons*, 54(3), 241–251. <https://doi.org/10.1016/j.bushor.2011.01.005>
- Salvacion, A. R., Pangga, I. B., Cumagun, C. J. R. (2015). Assessment of mycotoxin risk on corn in the Philippines under current and future climate change conditions. *Reviews on Environmental Health*, 30(3), 135–142. <https://doi.org/10.1515/reveh-2015-0019>
- Balan, B., Dhulaniya, A. S., Kumar, M., Kumar, M., Kumar, P. (2024). Aflatoxins in food: Prevalence, health effects, and emerging trends in its mitigation — An updated review. *Food Safety and Health*, 2, 39–71. <https://doi.org/10.1002/fsh3.12030>
- World Health Organization. (2021). Public health strategies for preventing aflatoxin exposure. Retrieved from <https://www.aflatoxinpartnership.org/wp-content/uploads/2021/05/Public-health-strategies-for-reducing-aflatoxin-exposures-WHO.pdf> Accessed February 28, 2025.
- Bandyopadhyay, R., Atehnkeng, J., Ortega-Beltran, A., Akande, A., Falade, T. D. O., Cotty, P. J. (2016). “Ground-truthing” efficacy of biological control for aflatoxin mitigation in farmers' fields in Nigeria: From field trials to commercial usage, a 10-year study. *Frontiers in Microbiology*, 10, Article 2528. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.02528>
- Shabeer, S., Asad, S., Jamal, A., Ali, A. (2022). Aflatoxin contamination, its impact and management strategies: An updated review. *Toxins*, 14(5), Article 307. <https://doi.org/10.3390/toxins14050307>
- Rustia, A. S., Mariano, C. B., Bautista, K. A., Mahoney, D., Barrios, E. B., Villarino, C. B. J. et al. (2022). Risk profiling of aflatoxin in peanut (*Arachis hypogaea* L.) to the Filipino consuming population. *Philippine Journal of Science*, 151(5), 1557–1577. <https://doi.org/10.56899/151.05.02>
- Balendres, M. A. O., Karlovsky, P., Cumagun, C. J. R. (2019). Mycotoxigenic fungi and mycotoxins in agricultural crop commodities in the Philippines: A review. *Foods*, 8(7), Article 249. <https://doi.org/10.3390/foods8070249>
- Gichohi-Wainaina, W. N., Kumwenda, N., Zulu, R., Munthali, J., Okori, P. (2021). Aflatoxin contamination: Knowledge disparities among agriculture extension officers, frontline health workers and smallholder farming households in Malawi. *Food Control*, 121, Article 107672. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2020.107672>
- Udomkun, P., Wossen, T., Nabahungu, N. L., Mutegi, C., Vanlauwe, B., Bandyopadhyay, R. (2018). Incidence and farmers' knowledge of aflatoxin contamination and control in eastern Democratic Republic of Congo. *Food Science and Nutrition*, 6(6), 1607–1620. <https://doi.org/10.1002/fsn3.735>
- Gachara, G., Suleiman, R., El Kadili, S., Barka, E. A., Kilima, B., Lahlali, R. (2022). Drivers of post-harvest aflatoxin contamination: Evidence gathered from knowledge disparities and field surveys of maize farmers in the Rift Valley region of Kenya. *Toxins*, 14(9), Article 618. <https://doi.org/10.3390/toxins14090618>

31. Jallow, E. A. A., Sonko, L. B., Mawunyo, D. R., Yusufu, J. (2022). Assessment of aflatoxin awareness in the Gambia. *African Journal of Agricultural Research*, 18(4), 281–287. <https://doi.org/10.5897/AJAR2021.15915>

32. Sandeep, G. P., Prashanth, P., Sreenivasulu, M., Madavilata, A. (2022). Effectiveness of agricultural information disseminated through social media. *Indian Journal of Extension Education*, 58(2), 186–190. <https://doi.org/10.48165/IJEE.2022.58244>



AUTHOR INFORMATION	СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ
Affiliation Razel Elaine Grace A. Cataluña , BS Chemistry, Chemist II, Integrated Laboratories Division, Department of Agriculture — Regional Field Office 10 Antonio Luna Str., Cagayan de Oro, Philippines 9000 Tel.: +63-977-704-14-45 E-mail: razelelaineGrace.cataluna@gmail.com ORCID: http://orcid.org/0009-0007-5420-0111 * corresponding author	Принадлежность к организации Каталуна Р. Е. Г. А. — Бакалавр химии, химик II степени, Отдел объединенных лабораторий, Департамент сельского хозяйства — Региональное отделение 10 Ул. Антонио Луна, Кагаян-де-Оро, Филиппины 9000 Тел.: +63-977-704-14-45 E-mail: razelelaineGrace.cataluna@gmail.com ORCID: http://orcid.org/0009-0007-5420-0111 * автор для контактов
Renato L. Base , PhD Sociology, Professor, Chairman, Department of Educational Planning and Administration, University of Science and Technology of Southern Philippines Claro M. Recto Avenue, Lapasan, Cagayan de Oro, Philippines 9000 Tel.: +63-915-474-75-67 E-mail: renato.base@ustp.edu.ph ORCID: http://orcid.org/0000-0002-8547-0268	Базе Р. И. — Доктор социологических наук, профессор, заведующий кафедрой образовательного планирования и управления, Университет науки и технологии Южных Филиппин Проспект Кларо М. Ректо, Лапасан, Кагаян-де-Оро, Филиппины 9000 Тел.: +63-915-474-75-67 E-mail: renato.base@ustp.edu.ph ORCID: http://orcid.org/0000-0002-8547-0268
Contribution Authors are equally relevant to the writing of the manuscript, and equally responsible for plagiarism.	Критерии авторства Авторы в равных долях имеют отношение к написанию рукописи и одинаково несут ответственность за плагиат.
Conflict of interest The authors declare no conflict of interest.	Конфликт интересов Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

DOI: <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2025-8-1-93-98>



Received 12.11.2024

Accepted in revised 15.03.2025

Accepted for publication 17.03.2025

© Mohamed R. M., Ali M. R., 2025

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

Original scientific article

Open access

FERMENTED CHICKPEA (*CICER ARIETINUM* L.) AS A FUNCTIONAL FOOD: MEATLESS “VEGAN” BURGERS

Reda M. Mohamed*, Marwa R. Ali

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

KEY WORDS:

vegetarian products,
fermentation,
Aspergillus oryzae,
umami taste, glutamic
acid, protein content

ABSTRACT

The global desire for ethical, sustainable, and nutritional food choices has intensified interest in plant-based meat alternatives. Researchers and food manufacturers have prioritized the development of superior alternatives to meat and dairy products due to the increasing popularity of vegetarian and vegan diets among consumers. Chickpeas, a leguminous source abundant in protein and fiber, and mushrooms are rich in umami chemicals and can potentially be essential ingredients in plant-based meat products. Plant-based foods' nutritional profile and sensory attributes can be improved through fermentation, a conventional method frequently employed in food production. This process can increase the allure of these foods to consumers. Therefore, this research aims to create a new product from plant sources that substitutes for meat products. The chickpea was fermented by *Aspergillus oryzae* (AUMC B2) for different fermentation periods (7, 10, and 14 days) to determine the optimum fermentation time to enhance the umami taste (meat flavor). Chickpeas and mushrooms were the primary raw materials for plant-based burgers. Fermented chickpeas were used to prepare vegan burgers at different fermentation times (7 days: FC7, 10 days: FC10, and 14 days: FC14). The sensory attributes of vegan burgers were compared to those of the non-fermented control sample. The results showed that the samples of FC10 meatless burgers recorded the highest score of taste and odor compared to the control. Based on these results, a chemical analysis was conducted for the meatless product FC10 and its control. The findings showed that the fermentation process increased the protein content and decreased the content of fats and carbohydrates in the fermented meatless burger.

Поступила 12.11.2024

Поступила после рецензирования 15.03.2025

Принята в печать 17.03.2025

© Мохамед Р. М., Али М. Р., 2025

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

Научная статья

Open access

ФЕРМЕНТИРОВАННЫЙ НУТ (*CICER ARIETINUM* L.) КАК ФУНКЦИОНАЛЬНЫЙ ПРОДУКТ: НЕ СОДЕРЖАЩИЕ МЯСО «ВЕГАНСКИЕ» БУРГЕРЫ

Мохамед Р. М.*, Али М. Р.

Кафедра науки о питании, Сельскохозяйственный факультет, Каир, Египет

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: АННОТАЦИЯ

вегетарианские
продукты,
ферментация,
Aspergillus oryzae, вкус
умами, глутаминовая
кислота, содержание
белка

Глобальный спрос на этические, экологичные и питательные пищевые продукты усилил интерес к растительным альтернативам мясу. Ученые и производители пищевых продуктов уделяют первостепенное внимание разработке превосходных альтернатив мясным и молочным продуктам из-за увеличивающейся популярности вегетарианских и веганских диет среди потребителей. Нут — бобовый источник белка, содержащий большое количество белка и пищевых волокон, а также грибы богаты химическими веществами «умами» и потенциально могут быть исключительно важными ингредиентами в растительных альтернативах мясным продуктам. Пищевой профиль и сенсорные характеристики растительных продуктов могут быть улучшены в результате ферментации — традиционного метода, широко используемого при производстве пищевых продуктов. Этот процесс может повысить привлекательность этих продуктов для потребителей. В этой связи, целью данного исследования было создание нового продукта из растительных источников, который заменил бы мясные продукты. Нут был ферментирован *Aspergillus oryzae* (AUMC B2) в течение различных периодов ферментации (7, 10 и 14 дней) для определения оптимального времени ферментации для усиления вкуса умами (мясного вкуса). Нут и грибы были основным растительным сырьем для растительных бургеров. Для приготовления бургеров был использован ферментированный нут с разным периодом ферментации (7 дней: FC7, 10 дней: FC10, и 14 дней: FC14). Сенсорные показатели веганских бургеров сравнивали с таковыми неферментированного контрольного образца. Результаты показали, что образцы не содержащих мясо бургеров FC10 получили наивысший балл вкуса и запаха по сравнению с контролем. На основании этих результатов был проведен химический анализ для не содержащих мясо продукта FC10 и контроля. Полученные данные показали, что процесс ферментации повышал содержание белка и снижал содержание жиров и углеводов в ферментированном, не содержащем мясо бургере.

1. Introduction

In recent years, numerous challenges have been associated with producing animal-based products, such as meat and poultry. Among these are the increasing global population, the scarcity of animal sources, the substantial greenhouse gas emissions associated with the livestock supply chain, and health issues [1,2,3]. Therefore, the shortage of animal and poultry feed resources is one of the main obstacles to increasing livestock and poultry wealth. Lack of animal feed will make it more expensive to rear animals, raising the price of producing both the animals and the food re-

quired to feed society's members [4]. Additionally, cattle breeding leads to a substantial release of greenhouse gases into the environment. About 51% of all greenhouse gases, such as NH₃, N₂O, CO₂, and CH₄, are released by human activities. These gasses acidify ecosystems and produce acid rain [5].

The scarcity of animal feed resources is a significant impediment to the expansion of livestock and poultry prosperity. Insufficient nutrition increases animal production costs, elevating the overall cost of meat and poultry products [4]. Additionally, the environmental degradation that results from the rigorous agricultural methods necessary to meet the

FOR CITATION: Mohamed, R. M., Ali, M. R. (2025). Fermented chickpea (*Cicer arietinum* L.) as a functional food: Meatless “vegan” burgers. *Food Systems*, 8(1), 93–98. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2025-8-1-93-98>

ДЛЯ ЦИТИРОВАНИЯ: Мохамед, Р. М., Али, М. Р. (2025). Ферментированный нут (*Cicer arietinum* L.) как функциональный продукт: не содержащее мясо «веганские» бургеры. *Пищевые системы*, 8(1), 93–98. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2025-8-1-93-98>

increasing food demand, which includes deforestation, water contamination, and biodiversity loss, is significant. Jiang et al. [6] have identified beef production as one of the most resource-intensive forms of animal agriculture, and research suggests that livestock farming is responsible for over 18% of global greenhouse gas emissions. Investigating alternative protein sources to mitigate environmental impacts and address food security concerns is becoming increasingly imperative.

Aside from environmental concerns, the health impacts of excessive meat consumption have been well-documented. Numerous studies have highlighted the link between high consumption of red and processed meats and the increased risk of chronic diseases, such as cardiovascular diseases, diabetes, and cancer [7]. The International Agency for Research on Cancer (IARC) has classified red and processed meats as carcinogenic, with evidence suggesting that the consumption of these meats, particularly in high quantities, may lead to an elevated risk of colorectal cancer [8]. In addition to the cancer risk, high meat consumption is also linked to metabolic disorders, including obesity, hypertension, and dyslipidemia, which can result in further health complications [9]. Consequently, there is a growing interest in reducing meat consumption and seeking healthier alternatives that provide the necessary nutrients without the associated health risks.

Plant-based meat alternatives are becoming progressively attractive substitutes for conventional meat products. These alternatives seek to emulate the sensory characteristics of meat, encompassing texture, flavor, and appearance while providing a more sustainable and health-oriented choice. Recent advancements in food technology have facilitated the creation of plant-based meats that closely replicate the sensory experience of traditional meat products. These plant-based substitutes encompass burgers, sausages, and nuggets, crafted to deliver equivalent sensory satisfaction as their animal-derived equivalents [10,11]. These products have been improved with innovative ingredients and processing methods that enhance their texture, flavor, and nutritional value, rendering them appealing to consumers aiming to minimize their environmental footprint while still enjoying meat-like foods.

Chickpea (*Cicer arietinum* L.), known as Garbanzo beans, has garnered considerable attention for its possible application in plant-based meat substitutes. Chickpeas are a rich source of protein, dietary fiber, and essential amino acids, especially lysine, frequently lacking in other plant protein sources. Consequently, chickpeas represent a top option for incorporating meat replacements, providing nutritional and functional advantages [12]. Chickpeas are not only a source of protein but also provide key micronutrients, including vitamins and minerals, vital for general health. Furthermore, chickpeas have demonstrated the ability to enhance digestive health and facilitate weight control owing to their substantial fiber content, rendering them a significant component of a plant-based diet [13]. Recent research has emphasized chickpeas' capacity to enhance blood sugar management, rendering them advantageous for those with or predisposed to diabetes [14].

While nutritionally beneficial, chickpeas possess antinutritional components such as trypsin inhibitors, phytic acid, and oligosaccharides that induce flatulence, potentially diminishing nutrient absorption and impairing protein digestion. Antinutritional factors can be mitigated through various processing techniques, such as fermentation. Fermentation enhances the nutritional quality of legumes by improving protein digestibility, diminishing antinutritional factors, and augmenting the availability of vitamins and minerals [15]. Fermented chickpeas may be optimal for plant-based meat alternatives, providing superior nutritional advantages and better sensory characteristics.

Protein-dense mushroom flour obtained from the mycelia of filamentous fungi represents a promising complete protein source for plant-based meat replacements. Mushrooms possess a beneficial amino acid composition, are low in fat, and have a fibrous texture analogous to meat, making them an appealing alternative for meat substitutes [16]. Mushrooms are known for their nutrition and health advantages, such as better cholesterol levels and increased muscle protein synthesis while exerting a considerably decreased environmental impact compared to animal proteins [16]. Incorporating mushrooms in plant-based meats has surged in popularity owing to its sustainability and the capacity of mushrooms to replicate the texture and mouthfeel of meat, thereby delivering a gratifying culinary experience for customers.

Fermentation enhances plant-based meat substitutes' flavor, texture, and nutritional quality. Recent studies indicate that fermenting plant-based components with fungi, such as *Aspergillus oryzae* and *Monascus purpureus*, can yield flavors and fragrances akin to conventional meats [17]. Fermentation enhances the sensory qualities of plant-based goods. It increases the bioavailability of essential nutrients, including a group of vitamin B complex and minerals, strengthening the nutritional value of a product [18].

This study examines the possibilities of producing meatless products using chickpeas fermented with *Aspergillus oryzae* and oyster mushrooms as nutritious and sustainable substitutes for meat. We focused on developing meat-free burgers, a popular and straightforward food choice that meets the growing consumer demand for healthy, convenient alternatives to meat and meat products. This study aims to enhance the nutritionally balanced and environmentally sustainable plant-based meat substitutes by utilizing the combined benefits of fermented chickpeas and mushrooms.

2. Materials and methods

2.1. Raw materials

Oyster mushrooms, chickpeas (*Cicer arietinum*), curry powder, potato starch, flour, bread crumbs, vegetable shortening, salt, sugar, black pepper, onion powder, garlic powder, ground corn, beetroot, and spices were purchased from the local market of Giza, Egypt. Both fermented chickpea and oyster mushrooms were used as main ingredients for fermented meatless burgers, as shown in Table 1.

2.2. Chemicals

Carboxymethyl cellulose (CMC), petroleum ether, sodium hydroxide, sulphuric acid, and Tween 80 were obtained from Sigma Chemical Company (St. Louis, Mo., USA). Potato dextrose agar and corn starch were from Fluka Chemie AG (Buchs, Switzerland).

2.3. Microbial strain

Aspergillus oryzae (AUMC B2) was used in this work and was obtained from Assiut University Moubasher Mycological Centre (AUMMC, Assiut, Egypt). It was allowed to grow in potato dextrose agar slants (PDA) and kept at a temperature of 4 °C.

2.4. Spore suspension of the microbial strain

Aspergillus oryzae (AUMC: B2) was introduced to malt extract agar slants and cultured at 30 °C for five days to create a spore suspension, following the procedure of Mohamed et al. [19]. After culturing, the spores were collected and added into a saline solution containing 0.1% Tween 80, with a volume of 50 ml. The gathered spores were used as a reservoir of inoculum after being quantified under a microscope (CARL ZEISS, Montagesatz T, West Germany) (3.4×10^5 spores/ml).

2.5. Preparation of fermented chickpeas (FC)

The chickpeas (CPs) were soaked in water (with a chickpeas-to-water ratio of 1:2, w/v) for six hours at room temperature (26 °C) and subsequently sterilized at a temperature of 121 °C in an autoclave for 15 minutes. Next, CPs were inoculated with *Aspergillus oryzae* (AUMC: B2) and incubated for 7, 10, and 14 days to finish the fermentation process. The samples were collected at three time points: 7 days (FC7), 10 days (FC10), and 14 days (FC14). After each collection, reducing the RNA concentration in the fermented sample was essential. Thus, thermal treatment of the fermented sample was applied at a temperature of 73 °C for 35 minutes using a shaking water bath (Blue M Magni Whirl Constant Temperature Shaking Heated Water Bath Model MSB-1122A-1, USA) with agitation. The treatment, as mentioned above, also deactivated the growth of mycelium.

2.6. Preparing mushrooms

Potable water was used to clean every mushroom. A vegetable spinner was used to remove water from mushrooms. Slices of each mushroom, each 2.5 mm thick, were steam-blanching for 5 seconds at a temperature of 130 °C. The mushrooms were kept at a temperature of -20 °C until needed.

2.7. Meatless food production processes

The prepared oyster mushrooms were combined with the fermented chickpeas and other ingredients, as mentioned in Table 1. Next, the whole mixture was formed into the shape of burger patties using a manual burger mold. Each piece weighed 50 grams. Then, they were packed into polypropylene packages and stored at -18 °C until further analysis.

2.8. Chemical analysis

The moisture, protein, fat, crude fibers, total ash, and total carbs of raw materials (mushroom and chickpeas) and samples of meatless burgers were analyzed according to AOAC [20]. Moisture content was determined: 3 to 5 g of the sample was placed in a convection oven at 105 °C until the weight remained constant. Ash content was determined by burning a sample in a muffle furnace at 525 °C. Protein content was determined using the Kjeldahl technique. Fat content was determined using the Soxhlet extraction technique. The total carbohydrates were estimated using the phenol – sulfuric acid method. By the difference, the fiber's mathematics can be calculated. Free amino acids composition (FAA) was analyzed by HPLC (HPLC, Smart line, Knauer, German) [21]. Twenty microliters of the

Table 1. Formulation of fermented meatless burger patties

Таблица 1. Рецепт приготовления ферментированных не содержащих мяса бургеров

Ingredients, %			
Main formula		Other additives	
Oyster mushroom	30	Curry powder	1
Fermented chickpeas (FC7, FC10 and FC14) and unfermented chickpeas (control)	20	Potato starch	12
		Salt	1
		Sugar	0.1
		Onion powder	10
		Garlic powder	2
		Vegetable shortening	4
		Black pepper	0.4
		CMC (Carboxymethyl cellulose)	1
		Beetroot	2.5
		Bread crumb	6
Corn flour	5		
Wheat flour	5		

FC7: fermented chickpeas after 7 days, FC10: fermented chickpeas after 10 days, FC14: fermented chickpeas after 14 days of the fermentation process.

hydrolyzed sample were injected into HPLC, which was equipped with a C18 reverse phase (RP) column and a fluorescence detector. The amino acids were identified and quantified by comparing the retention periods and peak regions with that of the amino acid standard.

2.9. Sensory evaluation

The sensory evaluation of the burgers was conducted by 50 untrained panelists of the Food Science Department, Faculty of Agriculture, Cairo University, Egypt, who evaluated the meatless burgers for various sensory attributes. The quality of the samples was assessed based on multiple criteria, including color, taste, odor, texture, physical appearance, and general acceptability, using a 9-point hedonic scale. The scoring system utilized a Likert scale ranging from 1 (dislike very much) to 9 (strongly like) to assess the level of preference [22].

2.10. Statistical analysis

The CoStat Version 6.45 was used for all statistical analysis (CoHort Software Version 6.45, Monterey, CA, USA). The primary statistical analysis approach was a one-way variance analysis (ANOVA). The data was analyzed using the randomized complete block design with one factor. Each parameter was replicated three times, and the data were presented as the average of four experiments. Estimates of LSD were calculated to test the significance of differences among means with a 5% significant point.

3. Results and discussion

3.1. Nutritional analysis of mushrooms and chickpeas

The nutritional value of mushrooms and chickpeas was analyzed by estimating their protein, fiber, fat, ash, carbohydrates, and moisture content. The results (Figure 1) showed the samples' high protein, carbohydrate, and fiber content, making them good raw materials suitable for manufacturing plant-based meat products. These results are consistent with many researchers in this field [14,23].

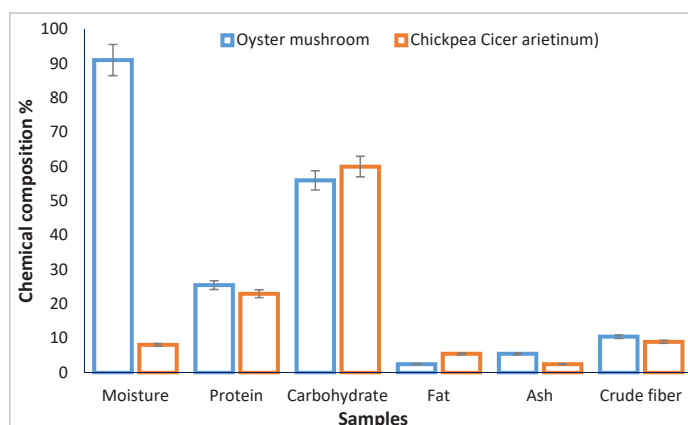


Figure 1. Chemical composition (%) of oyster mushrooms and chickpeas

Рисунок 1. Химический состав (%) вешенки и нута

Summo et al. [24] showed the highest lipid, dietary fiber, protein, and carbohydrate contents (4.1, 11.0, 20.5, and 61.0 g 100 g⁻¹, respectively) in beige chickpeas. Also, Ereifej et al. [25] found the highest protein and fat contents (21.2 and 7.09 g.100 g⁻¹, respectively) in Jubeiha-3 chickpea seed. Xiao et al. [26] examined the chemical composition of four chickpea species from Xinjiang, China: Muying-1, Keying-1, Desi-1, and Desi-2. The range of the moisture content was 7.64 to 7.89%. The total ash concentration varied between 2.59 and 2.69%. The range of the lipid content was 6.35 to 9.35%. The range of the protein level was 19.79–23.38%. According to Krüzselyi et al. [27], oyster mushrooms have a moderately high dry matter (DM) content (10.0%) for caps and a very high DM level (19.4%) for stipes. Oyster mushrooms have far more significant quantities of crude protein: 18.9% DM for caps and 11.3% DM for stipes. Compared to caps, stipes have a more substantial total carbohydrate content (63% for caps against 78% for stipes) [27]. The crude protein content of the cap, stalk, and combination (cap and stalk) is 34.19, 20.96, and 30.48%, respectively, according to Oluwafemi et al. [28]. The primary ingredient of edible mushrooms is carbohydrates, which comprise 52.9% of the cap, 61.8% of the stem, and 51.9% of the mixture. The crude fiber content of the edible mushroom varied by 3.1, 7.5, and 8.1% for the cap, stalk, and mixture, while the fat content was 1.60, 1.50, and 1.50% for the cap, stalk, and combination, respectively.

3.2. Profile of free amino acids (FAAs) in fermented and unfermented chickpeas

Cereals, nuts, and seeds have lower lysine contents than animal products but have comparable levels of sulfur amino acids (cysteine and methionine). Conversely, legumes often contain fewer sulfur amino acids and more lysine than other plant-based diets [29]. Therefore, a diet rich in different pulses can help you get the essential amino acids [30,31]. However, antinutritional factors (ANFs) in plant diets have been connected to the variation in protein bioavailability among dietary sources [32]. Meanwhile, the fermentation process can enhance the protein quality

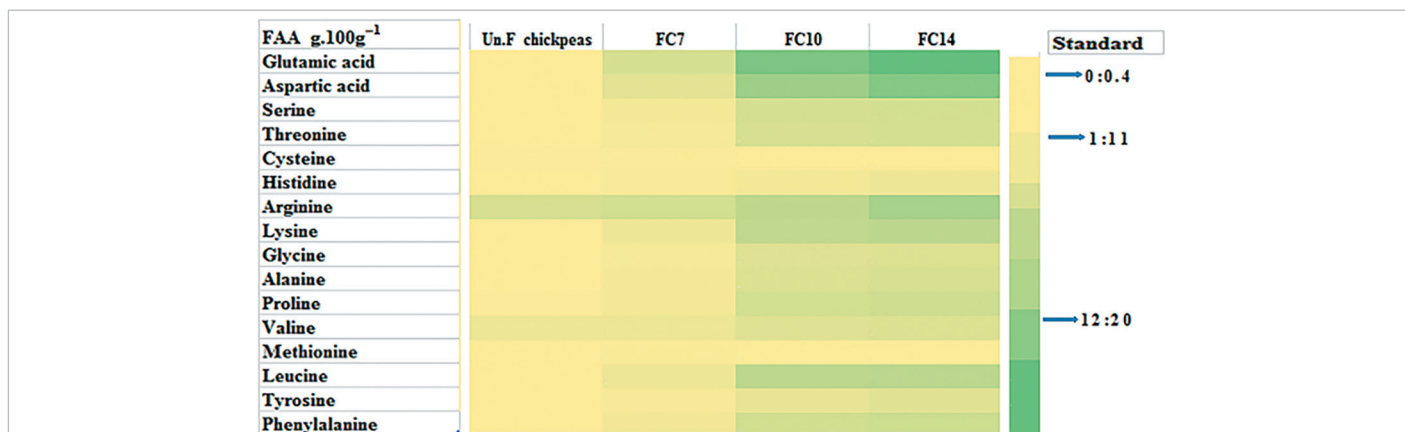


Figure 2. Heat map of correlation between the profile of free amino acids (FAAs) and fermentation time. Un-FC: unfermented chickpeas, FC7: fermented chickpeas after 7 days, FC10: fermented chickpeas after 10 days, FC14: fermented chickpeas after 14 days of fermentation process

Рисунок 2. Тепловая карта корреляции между профилем свободных аминокислот (FAA) и временем ферментации. Un-FC: неферментированный нут, FC7: ферментированный нут после 7 дней, FC10: ферментированный нут после 10 дней, FC14: ферментированный нут после 14 дней процесса ферментации

of legumes by increasing essential amino acid concentrations in pigeon peas, chickpeas, and red beans and reducing ANFs. Their synergistic actions enhance the amino acid profile of fermented legume-based foods, resulting in more outstanding balance and nutritional value [33]. Free amino acids were estimated in fermented chickpeas at different fermentation periods (7, 10, and 14 days) and then compared to unfermented chickpeas (control). Table 2 and Figure 2 identified the change in the FAA content and its effect on sensory evaluation as meat-free products' flavor improvement (umami flavor). The results showed a significant increase in glutamic and aspartic acid during fermentation. The values recorded after 14 days of fermentation were 18 and 14 g/100 g, respectively. These acids are responsible for the appearance of the umami taste (meaty taste) and for improving the flavor of the final product. Also, it was observed that there was an increase in most free amino acids, with a decrease in both methionine and cysteine.

Xing et al. [34] reported that *Pediococcus* spp. fermentation may change the structure of proteins and make it easier for digestive enzymes to get to the substrate. Furthermore, bacteria can partially degrade intact proteins, increasing the concentration of free amino groups in fermented chickpeas. De Pasquale et al. [35] found that fermentation with LAB provided for a further rise in most FAA in black chickpeas. Aside from its nutritional value, the high concentration of FAA is linked to an enhancement in the sensory profile of the final product. Glutamic is the primary amino acid responsible for sapidity perception. Likewise, Sáez et al. [36] reported the same results for the amino acid composition. The findings of Liu et al. [37] indicate that *Lactobacillus* fermentation modifies the multi-level structures of chickpea protein, resulting in a loose protein conformation that enhances hydrolysis during digestion. This improvement in protein digestibility underscores the capacity of fermentation to elevate the nutritional quality of chickpea-derived food products.

Table 2. Profile of free amino acids (FAAs) in fermented and unfermented chickpeas

Таблица 2. Профиль свободных аминокислот (FAA) в ферментированном и неферментированном нуте

FAA g·100 g ⁻¹	Unfermented chickpeas	FC7	FC10	FC14
Glutamic acid	0.11	4.70	15	18
Aspartic acid	–	3.09	11	14
Serine	–	1.40	4.8	5.0
Threonine	–	1.05	4.5	4.7
Cysteine	0.25	0.37	0.15	0.08
Histidine	0.17	0.69	1.45	1.87
Arginine	4.50	5.08	7.13	10
Lysine	0.02	1.87	6.89	7.4
Glycine	0.05	1.07	3.73	3.9
Alanine	–	1.24	4.01	4.5
Proline	0.27	1.20	5.10	5.6
Valine	2.10	2.25	3.60	4.01
Methionine	0.12	0.36	0.21	0.11
Leucine	–	2.04	7.30	7.54
Tyrosine	–	0.75	2.60	3.5
Phenylalanine	0.02	1.57	5.18	5.8
Tryptophan	ND	ND	ND	ND

FC7: fermented chickpea, period 7 days; FC10: fermented chickpea, period 10 days; FC14: fermented chickpea, period 14 days.

3.3. Sensory evaluation of meatless products

All samples of meatless burgers were prepared for sensory evaluation using fermented chickpeas (FC) at different fermentation periods, which were 7 days, 10 days, and 14 days. The sensory evaluation results are recorded in Table 3.

Table 3. Sensory evaluation of meatless burgers

Таблица 3. Сенсорная оценка не содержащих мясо бургеров

Samples	Color	Taste	Odor	Texture	Appearance	Overall acceptability
C	6.18±0.32 ^b	5.56±0.34 ^b	5.80±0.30 ^b	5.73±0.34 ^b	6.35±0.32 ^b	6.13±0.30 ^b
FC7	5.55±0.33 ^b	4.85±0.34 ^c	5.20±0.29 ^b	5.30±0.37 ^b	5.58±0.33 ^c	5.25±0.31 ^c
FC10	6.93±0.31 ^a	7.13±0.29 ^a	7.05±0.30 ^a	7.03±0.30 ^a	7.05±0.39 ^a	7.03±0.30 ^a
FC14	6.95±0.35 ^a	7.10±0.32 ^a	6.90±0.34 ^a	7.18±0.31 ^a	7.10±0.32 ^a	7.10±0.32 ^a

Where C: unfermented chickpeas, FC7: fermented chickpeas, period 7 days; FC10: fermented chickpeas, period 10 days; FC14: fermented chickpeas, period 14 days. Mean values with different superscript letters in each row differ significantly ($p < 0.05$).

Results in Table 3 show that samples FC10 and FC14 had a clear difference in their superiority in terms of color, taste, odor, texture, and appearance compared to samples FC7 and C. Therefore, the best samples are samples FC10 and FC14. Still, the decision was made from an economic point of view to choose the sample FC10 as the best one to save energy and time spent when increasing the fermentation period. Much evidence states that the nutritional benefit of legumes can be improved by treatments such as fermentation before their incorporation into legume-supplemented products. Being relatively simple and economical, solid state fermentation (SSF) of chickpea flour (CF) can induce biochemical changes such as an increase in free limiting amino acids and available vitamins and a decrease in antinutritional factors, thus improving the functional and nutritional properties of the product.

Xiao et al. [38] demonstrated that solid-state fermentation of chickpea flour using the filamentous fungus *Cordyceps militaris* improved its crude protein content, essential amino acids, small-sized peptides and in vitro protein digestibility. Also, Liu et al. [39] reported that by changing the multilayer structures of chickpea protein, *Lactobacillus* fermentation made the protein more soluble and improved its breakdown during stomach and intestinal digestion.

Moreover, the phenolic content increased throughout fermentation, and the inhibitory activities of trypsin and chymotrypsin decreased. This happened due to fermentation producing hydrolytic enzymes, such as trypsin and chymotrypsin, which became hydrolyzed and inactivated [40]. *Aspergillus oryzae* fermented four types of beans in the previous studies. The results showed a decrease in the carbohydrate content during fermentation, while an increase in the content of amino and fatty acids was observed [41]. The following are the processes by which microbes and their enzymes break down proteins during fermentation. Protein's envelope proteinase initially breaks down proteins into oligopeptides, which are then broken down by proline-specific peptidases, other intracellular peptidases, and exopeptidases into amino acids and shorter peptides, enhancing the flavor [42,43].

The study by Razavizadeh et al. [44] aimed to ascertain how fermentation affected okara in producing meat substitutes. The strains of *L. acidophilus* 308 and *L. plantarum* P1 were used to ferment the okara samples. The meat analogs were created by including 3% and 6% fermented okara into the matrices. The results showed that fermentation may reduce hardness and protein oxidation levels and improve the water-holding capacity of meat substitutes and sensory attributes. It has been demonstrated that okara provides enough fiber, plant-based proteins, and necessary amino acids.

High water absorption flours have more hydrophilic components, including polysaccharides, since WAC indicates a macromolecule's capacity to bind water [24]. Some scientists [45] say WAC may also be connected to protein composition and content. The texture, oil, water binding capacity, and gelling ability of chickpea protein are excellent. Another essential characteristic of chickpea protein is its capacity to stabilize emulsions and foam, making it equivalent to whey proteins and soy protein isolate. The beneficial impact of chickpeas on the color of the meat analog is one of its main benefits. Research has indicated that chickpea flour instead of some textured vegetable protein in vegetarian nuggets significantly improved color acceptability due to its carotenoid content [46,47]. Meat consumers frequently contrast meat substitutes with traditional beef, mutton, or pork. Customers have been advised to eat less meat to improve the environment and lead healthier lives. Although mushroom-based meat analogs are a viable alternative to animal meat, public acceptance of these products is still relatively low, possibly due to their flavor and taste [48]. Therefore, identifying the sensory characteristics that require optimization to enhance palatability is crucial [49]. Thus, in this study, the flavor was enhanced using fermented chickpeas to increase the sensory acceptance of meatless products.

3.4. Chemical analysis of meatless burgers

Table 4 shows that burgers prepared from fermented chickpeas significantly increased protein values. The protein content reached 15.54%. Compared to the control, the protein value was 10.48% for unfermented chickpea burgers.

Table 4. Chemical composition of meatless burgers
Таблица 4. Химический состав не содержащих мясо бургеров

Samples	Moisture	Ash	Carbohydrates	Fat	Protein	Crude fiber
C	57.51 ± 0.29 ^a	8.00 ± 0.29 ^a	64.15 ± 0.60 ^a	13.51 ± 0.29 ^a	10.19 ± 0.61 ^b	5.14 ± 0.33 ^a
FC10	56.17 ± 0.44 ^b	7.42 ± 0.52 ^a	63.74 ± 0.41 ^b	9.28 ± 0.43 ^b	15.75 ± 0.39 ^a	3.81 ± 0.36 ^b

C: unfermented chickpea, FC10: fermented chickpea, period 10 days.

Mean values with different superscript letters in each row differ significantly ($p < 0.05$).

Moreover, the results showed a significant difference in the fiber percentage in the fermented sample compared to the unfermented one. The fiber level was 3.81% in the fermented burger and 5.14% in the non-fermented control sample. This is due to the growth of the *Aspergillus oryzae* on the chickpeas and enzymatic degradation of the fiber. Likewise, the fat content decreased (9.28% in fermented burgers and 13.5% in the control. This is due to the enzymatic degradation of fats by *Aspergillus oryzae* during chickpea fermentation. Previous studies have documented that the fermentation process improves the sensory characteristics in terms of taste and smell to produce the umami taste responsible for the appearance of the meaty flavor of meat plant-based products.

In the future, mushrooms and fermented foods may represent a new class of plant proteins due to their meat-like flavor, extended shelf life, and high nutritional content.

4. Conclusions

Ensuring sustainable methods to fulfill the demands of a rising population while limiting environmental damage is a significant problem facing the global food business. Simultaneously, the need for high-quality products and customer awareness spur innovation and constructive changes in the food supply chain. This study aims to develop a more nutrient-rich

and sustainable substitute by describing meatless burgers' chemical and sensory properties: an innovative approach to popular food products. We believe that the most superb method to increase pulse intake is to create enticing, nourishing, and easy ready-to-eat legume-based meals. The different fermentation periods of chickpeas (*Cicer arietinum*) mixed with oyster mushrooms have significantly affected the organoleptic properties of burger substitutes. The ten days as a fermentation period showed promising results, especially in protein. Burger substitutes with 10 days as the fermentation period exhibited better textural properties and sensory mean scores. However, samples with no fermentation and 7 days for the fermentation period were not the best options for producing burger substitutes, and they failed to satisfy the sensory panelists as the added ingredient affected the texture and taste. It can be concluded that meatless burgers, after 10 days of fermentation, represent acceptable plant-based products with good sensory acceptability. Due to the breakdown of non-nutritive components, which the microbes present during the fermentation may use as an energy source to grow, the fermented proteins have excellent protein quality. The solubility of plant-based proteins in water is impacted because, during fermentation, the hydrophobicity of the protein surface rises. Furthermore, some non-nutritive substances in plant-based proteins changed during fermentation.

REFERENCES

- Llonch, P., Haskell, M. J., Dewhurst, R. J., Turner, S. P. (2017). Current available strategies to mitigate greenhouse gas emissions in livestock systems: An animal welfare perspective. *Animal*, 11(2), 274–284. <https://doi.org/10.1017/s1751731116001440>
- Uwizeye, A., de Boer, I. J., Opio, C. I., Schulte, R. P. O., Falcucci, A., Tempio, G. et al. (2020). Nitrogen emissions along global livestock supply chains. *Nature Food*, 1(7), 437–446. <https://doi.org/10.1038/s43016-020-0113-y>
- Andreani, G., Sogari, G., Marti, A., Froidi, F., Dagevos, H., Martini, D. (2023). Plant-based meat alternatives: Technological, nutritional, environmental, market, and social challenges and opportunities. *Nutrients*, 15(2), Article 452. <https://doi.org/10.3390/nu15020452>
- Ojediran, T. K., Olofinfuyi, O. S., Ojediran, T. J. (2024). Alternative feed resources in the era of climate change: A review. *Aceh Journal of Animal Science*, 9(3), 98–110. <https://doi.org/10.13170/ajas.9.3.37655>
- Đekić, I., Tomašević, I. (October 1–4, 2017). *Environmental footprints in the meat chain*. IOP Conference Series: Earth and Environmental Science. 59th International Meat Industry Conference MEATCON2017, Zlatibor, Serbia. IOP Publishing, 2017. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/85/1/012015>
- Jiang, G., Ameer, K., Kim, H., Lee, E.-J., Ramachandraiah, K., Hong, G.-P. (2020). Strategies for sustainable substitution of livestock meat. *Foods*, 9(9), Article 1227. <https://doi.org/10.3390/foods9091227>
- National Academies of Sciences, Engineering, and Medicine. (2019). *Science breakthroughs to advance food and agricultural research by 2030*. National Academies Press, 2019. <https://doi.org/10.17226/25059>
- IARC Monographs. (2018). Red meat and processed meat / IARC Working Group on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. International Agency for Research on Cancer, 2018.
- Xiao, X., Zou, P.-R., Hu, F., Zhu, W., Wei, Z.-J. (2023). Updates on plant-based protein products as an alternative to animal protein: Technology, properties, and their health benefits. *Molecules*, 28(10), Article 4016. <https://doi.org/10.3390/molecules28104016>
- Bohrer, B. M. (2019). An investigation of the formulation and nutritional composition of modern meat analogue products. *Food Science and Human Wellness*, 8(4), 320–329. <https://doi.org/10.1016/j.fshw.2019.11.006>
- Bakhsh, A., Lee, S.-J., Lee, E.-Y., Sabikun, N., Hwang, Y.-H., Joo, S.-T. (2021). A novel approach for tuning the physicochemical, textural, and sensory characteristics of plant-based meat analogs with different levels of methylcellulose concentration. *Foods*, 10(3), Article 560. <https://doi.org/10.3390/foods10030560>
- Yegrem, L. (2021). Nutritional composition, antinutritional factors, and utilization trends of Ethiopian chickpea (*Cicer arietinum* L.). *International Journal of Food Science*, 2021(1), Article 5570753. <https://doi.org/10.1155/2021/5570753>
- Semba, R. D., Ramsing, R., Rahman, N., Kraemer, N., Bloem, M. W. (2021). Legumes as a sustainable source of protein in human diets. *Global Food Security*, 28, Article 100520. <https://doi.org/10.1016/j.gfs.2021.100520>
- Begum, N., Khan, Q. U., Liu, L. G., Li, W., Liu, D., Haq, I. U. (2023). Nutritional composition, health benefits and bio-active compounds of chickpea (*Cicer arietinum* L.). *Frontiers in Nutrition*, 10, Article 1218468. <https://doi.org/10.3389/fnut.2023.1218468>
- Verni, M., Pontonio, E., Montemurro, M., Giuseppe Rizzello, C. (2022). Fermentation as strategy for improving nutritional, functional, technological, and sensory properties of legumes. Chapter in a book: *Legumes Research-Volume 2*. IntechOpen, 2022. <https://doi.org/10.5772/intechopen.102523>
- Finnigan, T. J. A., Theobald, H. E., Bajka, B. (2024). Mycoprotein: A healthy and sustainable source of alternative protein-based foods. *Annual Review of Food Science and Technology*, 16. <https://doi.org/10.1146/annurev-food-111523-121802>
- Farid, M. S., Anjum, R., Yang, Y., Tu, M., Zhang, T., Pan, D. et al. (2024). Recent trends in fermented plant-based analogues and products, bioactive peptides, and novel technologies-assisted fermentation. *Trends in Food Science and Technology*, 149, Article 104529. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2024.104529>
- Boukid, F., Hassoun, A., Zouari, A., Tülbek, M. Ç., Mefleh, M., Ait-Kaddour, A. et al. (2023). Fermentation for designing innovative plant-based meat and dairy alternatives. *Foods*, 12(5), Article 1005. <https://doi.org/10.3390/foods12051005>
- Mohamed, D. E., Alian, A. M., Mohamed, R. M. (2024). Optimization of production and evaluation of Microbial kojic Acid obtained 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>
- AOAC (2019) Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists: Official Methods of Analysis of AOAC International. 21st Edition, AOAC, MD: Gaithersburg, MD, USA
- Mohamed, R. M., Bazaraa, W. A., Alian, A. M., El-Shimi, N. M. (2021). New application of microbial l-glutaminase as a flavor enhancing agent in beef burgers. *Theory and Practice of Meat Processing*, 6(4), 375–380. <https://doi.org/10.21323/2414-438x-2021-6-4-375-380>
- El-Beltagi, H. S., El-Mogy, M. M., Parmar, A., Mansour, A. T., Shalaby, T. A., Ali, M. R. (2022). Phytochemical characterization and utilization of dried red beetroot (*Beta vulgaris*) peels extract in maintaining the quality of Nile tilapia fish fillet. *Antioxidants*, 11(5), Article 906. <https://doi.org/10.3390/antiox11050906>
- Grasso, N., Lynch, N. L., Arendt, E. K., O'Mahony, J. A. (2022). Chickpea protein ingredients: A review of composition, functionality, and applications. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 21(1), 435–452. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12878>
- Summo, C., De Angelis, D., Ricciardi, L., Caponio, F., Lotti, C., Pavan, S. et al. (2019). Nutritional, physico-chemical and functional characterization of a global chickpea collection. *Journal of Food Composition and Analysis*, 84, Article 103306. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2019.103306>
- Ereifej, K. I., Al-Karaki, G. N., Hammouri, M. K. (2001). Seed chemical composition of improved chickpea cultivars grown under semiarid Mediterranean conditions. *International Journal of Food Properties*, 4(2), 239–246. <https://doi.org/10.1081/jfp-100105190>
- Xiao, S., Li, Z., Zhou, K., Fu, Y. (2023). Chemical composition of kabuli and desi chickpea (*Cicer arietinum* L.) cultivars grown in Xinjiang, China. *Food Science and Nutrition*, 11(1), 236–248. <https://doi.org/10.1002/fsn3.3056>
- Krúzselyi, D., Kovács, D., Vetter, J. (2016). Chemical analysis of king oyster mushroom (*Pleurotus eryngii*) fruitbodies. *Acta Alimentaria*, 45(1), 20–27. <https://doi.org/10.1556/066.2016.45.1.3>
- Oluwafemi, G. I., Seidu, K. T., Fagbemi, T. N. (2016). Chemical composition, functional properties and protein fractionation of edible oyster mushroom (*Pleurotus ostreatus*). *Annals: Food Science and Technology*, 17(1), 218–223.
- Fukagawa, N. K., Yu, Y. -M. (2009). Nutrition and metabolism of proteins and amino acids. Chapter in a book: *Introduction to Human Nutrition*. A John Wiley and Sons, 2009.
- Messina, V. (2014). Nutritional and health benefits of dried beans. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 100, 437S–442S. <https://doi.org/10.3945/ajcn.113.017472>

31. Melina, V., Craig, W., Levin, S. (2016). Position of the academy of nutrition and dietetics: Vegetarian diets. *Journal of the Academy of Nutrition and Dietetics*, 116(12), 1970–1980. <https://doi.org/10.1016/j.jand.2016.09.025>
32. Leser, S. (2013). The 2013 FAO report on dietary protein quality evaluation in human nutrition: Recommendations and implications. *Nutrition Bulletin*, 38(4), 421–428. <https://doi.org/10.1111/nbu.12063>
33. Senanayake, D., Torley, P. J., Chandrapala, J., Terefe, N. S. (2023). Microbial fermentation for improving the sensory, nutritional and functional attributes of legumes. *Fermentation*, 9(7), Article 635. <https://doi.org/10.3390/fermentation9070635>
34. Xing, Q., Dekker, S., Kyriakopoulou, K., Boom, R. M., Smid, E. J., Schutyser, M. A. (2020). Enhanced nutritional value of chickpea protein concentrate by dry separation and solid state fermentation. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 59, Article 102269. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2019.102269>
35. De Pasquale, I., Verni, M., Verardo, V., Gómez-Caravaca, A. M., Rizzello, C. G. (2021). Nutritional and functional advantages of the use of fermented black chickpea flour for semolina-pasta fortification. *Foods*, 10(1), Article 182. <https://doi.org/10.3390/foods10010182>
36. Sáez, G. D., Sabater, C., Fara, A., Zárate, G. (2022). Fermentation of chickpea flour with selected lactic acid bacteria for improving its nutritional and functional properties. *Journal of Applied Microbiology*, 133(1), 181–199. <https://doi.org/10.1111/jam.15401>
37. Liu, Y., Zhu, S., Li, Y., Sun, F., Huang, D., Chen, X. (2023). Alternations in the multilevel structures of chickpea protein during fermentation and their relationship with digestibility. *Food Research International*, 165, 112453. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2022.112453>
38. Xiao, Y., Huang, L., Chen, Y., Zhang, S., Rui, X., Dong, M. (2016). Comparative study of the effects of fermented and non-fermented chickpea flour addition on quality and antioxidant properties of wheat bread. *CyTA-Journal of Food*, 14(4), 621–631. <https://doi.org/10.1080/19476337.2016.1188157>
39. Liu, Y., Zhu, S., Li, Y., Sun, F., Huang, D., Chen, X. (2023). Alternations in the multilevel structures of chickpea protein during fermentation and their relationship with digestibility. *Food Research International*, 165, Article 112453. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2022.112453>
40. Kumitch, H. M., Stone, A., Nosworthy, M. G., Nickerson, M. T., House, J. D., Korber, D. R. et al. (2020). Effect of fermentation time on the nutritional properties of pea protein-enriched flour fermented by *Aspergillus oryzae* and *Aspergillus niger*. *Cereal Chemistry*, 97(1), 104–113. <https://doi.org/10.1002/cche.10234>
41. Lee, Y. H., Lee, N. R., Lee, C. H. (2022). Comprehensive metabolite profiling of four different beans fermented by *Aspergillus oryzae*. *Molecules*, 27(22), Article 7917. <https://doi.org/10.3390/molecules27227917>
42. Verni, M., Pontonio, E., Montemurro, M., Giuseppe Rizzello, C. (2022). Fermentation as Strategy for Improving Nutritional, Functional, Technological, and Sensory Properties of Legumes. Chapter in a book: *Legumes Research-Volume 2*. IntechOpen, 2022. <https://doi.org/10.5772/intechopen.102523>
43. Alrosan, M., Tan, T. C., Koh, W. Y., Easa, A. M., Gammoh, S., Alu'datt, M. H. (2023). Overview of fermentation process: Structure-function relationship on protein quality and non-nutritive compounds of plant-based proteins and carbohydrates. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 63(25), 7677–7691. <https://doi.org/10.1080/10408398.2022.2049200>
44. Razavizadeh, S., Alencikienė, G., Salaseviciene, A., Vaiciulyte-Funk, L., Ertbjerg, P., Zabulione, A. (2021). Impact of fermentation of okara on physicochemical, techno-functional, and sensory properties of meat analogues. *European Food Research and Technology*, 247(9), 2379–2389. <https://doi.org/10.1007/s00217-021-03798-8>
45. Du, S., Jiang, H., Yu, X., Jane, J. (2014). Physicochemical and functional properties of whole legume flour. *LWT-Food Science and Technology*, 55(1), 308–313. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2013.06.001>
46. Akram, S., Afzal, M. F., Anwer, K., Farman, L., Zubair, M., Kousar, S. et al. (2024). Nutraceutical properties, biological activities, and industrial applications of chickpea protein. *Cogent Food and Agriculture*, 10(1), Article 2338653. <https://doi.org/10.1080/23311932.2024.2338653>
47. Kurek, M. A., Onopiuk, A., Pogorzelska-Nowicka, E., Szpicer, A., Zalewska, M., Półtorak, A. (2022). Novel protein sources for applications in meat-alternative products — Insight and challenges. *Foods*, 11(7), Article 957. <https://doi.org/10.3390/foods11070957>
48. Szenderák, J., Fróna, D., Rákos, M. (2022). Consumer acceptance of plant-based meat substitutes: A narrative review. *Foods*, 11(9), Article 1274. <https://doi.org/10.3390/foods11091274>
49. Cordelle, S., Redl, A., Schlich, P. (2022). Sensory acceptability of new plant protein meat substitutes. *Food Quality and Preference*, 98, Article 104508. <https://doi.org/10.1016/j.foodqual.2021.104508>

AUTHOR INFORMATION		СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ	
Affiliation		Принадлежность к организации	
Reda M. Mohamed , 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: https://orcid.org/0000-0001-5817-9187 * corresponding author		Мохамед Р. М. — 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: https://orcid.org/0000-0001-5817-9187 * автор для контактов	
Marwa R. Ali — Associate Professor, Department of Food Science, Faculty of Agriculture, Cairo University 1 Gamaa Street, 12613, Giza, Egypt Tel.: +2-0100-469-55-15 E-mail: marwa3mrf@agr.cu.edu.eg ORCID: https://orcid.org/0000-0002-7399-1277		Али М. Р. — адъюнкт-профессор, Кафедра науки о питании, Сельскохозяйственный факультет, Каирский Университет 12613, Египет, Гиза, ул. Гамаа, 1 Тел.: +2-0100-469-55-15 E-mail: marwa3mrf@agr.cu.edu.eg ORCID: https://orcid.org/0000-0002-7399-1277	
Contribution		Критерии авторства	
Authors are 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.	
Conflict of interest		Конфликт интересов	
The authors declare no conflict of interest.		Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.	

DOI: <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2025-8-1-99-105>

Поступила 02.10.2024

Поступила после рецензирования 17.03.2025

Принята в печать 21.03.2025

© Пивненко Т. Н., Позднякова Ю. М., Есипенко Р. В., 2025

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

Научная статья

Open access

ВЛИЯНИЕ ПРОДУКТОВ ПЕРЕРАБОТКИ ФУКУСОВЫХ ВОДОРОСЛЕЙ НА СТРУКТУРООБРАЗОВАНИЕ И ОКИСЛЕНИЕ ЛИПИДОВ В МЫШЕЧНОЙ ТКАНИ РЫБ

Пивненко Т. Н.*, Позднякова Ю. М., Есипенко Р. В.

Дальневосточный государственный технический рыбохозяйственный Университет (Дальрыбвтуз), Владивосток, Россия

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: АННОТАЦИЯ

фукоидан,
полифенолы,
антиоксидантная
активность,
структуро-
образование,
окисление липидов

Увеличение пищевой ценности и улучшение технологических показателей полуфабрикатов и готовых рыбных продуктов соответствуют современным тенденциям здорового питания и обеспечивают рациональное использование сырья. Лабильная структура компонентов рыбного сырья и особенно его липидных составляющих способствует негативным изменениям, связанным с окислительными процессами при переработке и хранении. Пищевые волокна с доказанной антиоксидантной активностью способны ингибировать перекисное окисление липидов в биологических системах и пищевом сырье, одновременно оказывая стабилизирующее действие на реологические свойства продукции. Целью работы являлось исследование влияния продуктов переработки бурой водоросли рода фукусов *Fucus evanescens* (а именно гелей с сульфатированным фукоиданом и экстракта водорастворимых полифенолов) на окислительную стабильность липидов и структурообразование в мышечной ткани рыб на примере фарша горбуши. Обработка гелей фукоидана ультразвуком позволила получить продукт с высокой антиоксидантной активностью (АОА) и повышенной вязкостью. АОА гелей и экстрактов составляла 45 и 91% на 1 мг сухого вещества соответственно. Внесение гелей в состав фаршевых смесей из мышечной ткани горбуши обеспечило снижение их вязкоупругих характеристик (прочности, адгезивности и упругости), что оказало положительное влияние на консистенцию полуфабрикатов и готовых изделий. Внесение сухих экстрактов полифенолов в фарш горбуши привело к утрате способности его к формообразованию, связанной со снижением водоудерживающей способности белков. Потери при термообработке для фаршей с добавлением геля были вдвое меньшими, чем для контрольных образцов, и оставались стабильными при морозильном хранении. Исследование динамики накопления первичных вторичных продуктов окисления липидов, оснований Шиффа и малонового диальдегида в процессе морозильного хранения показало, что начальные окислительные изменения в фарше горбуши затрагивают фосфолипиды, затем распространяются на триглицериды. Через 5 месяцев морозильного хранения наблюдалось накопление малонового диальдегида до значений 1,27 и 1,60 мг/кг фарша для контрольных образцов и образцов с добавлением экстракта. При добавлении гелей фукоидана к концу указанного срока хранения содержание малонового диальдегида составило 0,16 мг/кг фарша. Полученные результаты позволяют рекомендовать гели фукоидана с повышенной АОА для стабилизации структуры мышечной ткани рыб и антиоксидантной защиты ее компонентов.

ФИНАНСИРОВАНИЕ: статья подготовлена в рамках выполнения исследований по государственному заданию Федерального агентства по рыболовству РФ № 827/2023.

Received 02.10.2024

Accepted in revised 17.03.2025

Accepted for publication 21.03.2025

© Pivnenko T. N., Pozdnyakova Yu. M., Esipenko R. V., 2025

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

Original scientific article

Open access

EFFECT OF PRODUCTS OF FUCUS ALGA PROCESSING ON STRUCTURE FORMATION AND OXIDATION OF LIPIDS IN FISH MUSCLE TISSUE

Tatiana N. Pivnenko*, Yuliya M. Pozdnyakova, Roman V. Esipenko

Far Eastern State Technical Fisheries University (Dalrybvtuz), Vladivostok, Russia

KEY WORDS:

fucoidan, polyphenols,
antioxidant activity,
structure formation,
oxidation of lipids

ABSTRACT

An increase in the nutritional value and improvement of technological parameters of semi-finished products and final fish products correspond to the modern trends of healthy nutrition and ensure the rational use of raw materials. The labile structure of components of fish raw materials and especially their lipid constituents facilitates negative changes linked to oxidative processes during processing and storage. Dietary fiber with proven antioxidant activity can inhibit peroxidation of lipids in biological systems and food raw materials exerting at the same time the stabilizing effect on rheological properties of products. The aim of the work was to study an effect of products of processing of brown alga *Fucus evanescens* (namely gels with sulfated fucoidan and the extract of water-soluble polyphenols) on the oxidative stability of lipids and structure formation in fish muscle tissue by the example of humpback salmon minced meat. Processing of fucoidan gels with ultrasound allowed obtaining a product with the high antioxidant activity (AOA) and increased viscosity. The AOA of gels and extracts was 45 and 91% per 1 mg of dry matter, respectively. Introduction of gels into the composition of minced meat mixtures from muscle tissue of humpback salmon ensured a decrease in their viscoelastic characteristics (strength, adhesiveness and elasticity), which exerted a positive effect on the consistency of semi-finished products and final products. Addition of dry extracts of polyphenols into humpback salmon minced meat led to the loss of its shaping ability linked to a decrease in the water holding capacity of proteins. Cooking losses in minced meat with addition of gel were two times lower than those in the control samples and remained stable during frozen storage. The study of the dynamics of accumulation of primary and secondary products of lipid oxidation, Schiff bases and malondialdehyde during frozen storage showed that the initial oxidative changes in the humpback salmon minced meat affected phospholipids, and then they were spread to triglycerides. After five months of frozen storage,

ДЛЯ ЦИТИРОВАНИЯ: Пивненко, Т. Н., Позднякова, Ю. М., Есипенко, Р. В. (2025). Влияние продуктов переработки фукусковых водорослей на структурообразование и окисление липидов в мышечной ткани рыб. *Пищевые системы*, 8(1), 99–105. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2025-8-1-99-105>

FOR CITATION: Pivnenko, T. N., Pozdnyakova, Yu. M., Esipenko, R. V. (2025). Effect of products of Fucus alga processing on structure formation and oxidation of lipids in fish muscle tissue. *Food Systems*, 8(1), 99–105. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2025-8-1-99-105>

accumulation of malondialdehyde up to the values of 1.27 and 1.60 mg/kg minced meat was observed in the control samples and the samples with the addition of the extract. When adding fucoidan gels, the content of malondialdehyde was 0.16 mg/kg minced meat by the end of the indicated storage period. The results obtained make it possible to recommend fucoidan gels with increased AOA to stabilize the structure of fish muscle tissue and antioxidant protection of its components.

FUNDING: The paper was prepared within the framework of the research on the State assignment of the Federal Agency for Fishery of the RF No. 827/2023.

1. Введение

В настоящее время использование пищевых волокон (ПВ) в технологии переработки мясных и рыбных продуктов показывает обоснованные преимущества для увеличения пищевой ценности и улучшения технологических показателей полуфабрикатов и готовых изделий. Это, в свою очередь, соответствует современным тенденциям здорового питания и обеспечивает рациональное использование сырья [1].

Рыба и морепродукты содержат легкоусвояемые белки и незаменимые липиды, которые одновременно имеют весьма лабильную структуру и подвержены негативному влиянию факторов внешней среды. Высокая ненасыщенность липидов в морском сырье, наличие сильных проокислительных систем способствуют быстрому окислению липидов при переработке и хранении рыбных продуктов. Реакция окисления липидов влияет на стабильность белков, питательные свойства и вкусовые качества рыбы и может рассматриваться как основная химическая реакция, ставящая под угрозу рациональное использование пищевых ресурсов [2,3].

В этом контексте особый интерес представляют ПВ, обладающие антиоксидантной активностью (АОА). Основные источники их получения — отходы промышленной переработки фруктов и овощей, а также морские водоросли [4,5]. Добавление ПВ-антиоксидантов в рыбные продукты может обеспечить структурообразование, обогащение рациона полезными компонентами, торможение процессов окисления полиненасыщенных жирных кислот, которые рассматриваются в качестве предпочтительных ингредиентов пищевого рациона. При этом существует возможность разработки новых видов рыбных изделий, обогащенных ПВ, хорошо адаптированных к предпочтениям потребителей.

Недавно была введена концепция пищевых волокон с антиоксидантными свойствами (АПВ) [4,5]. Основной характеристикой этих натуральных продуктов должно быть сочетание физиологических эффектов ПВ и антиоксидантов в одном материале. Согласно выдвинутой концепции, 1 г АПВ должен иметь способность к поглощению свободных радикалов (по реакции с DPPH (2,2-дифенил-1-пикрилгидразилом)), эквивалентную 50 мг витамина Е, а содержание ПВ в препарате должно превышать 50% по сухой массе и происходить из природных материалов.

Привлекательность применения природных антиоксидантов в качестве стабилизаторов пищевых продуктов возрастает из-за их потенциальной пользы для здоровья. Доказано, что перекисное окисление липидов *in vivo* и продукты окисления липидов, поступающие с пищей, являются основной причиной многих заболеваний, в том числе атеросклероза, рака, процессов старения [6,7]. Эндегенные растительные антиоксиданты способны ингибировать перекисное окисление липидов и обеспечивать защиту от окислительного повреждения биологических систем и пищевого сырья.

Среди ПВ, обладающих АОА, одними из наиболее эффективных считаются сульфатированные полисахариды (СП), такие как фукоиданы. Они представляют собой сложно устроенную иерархию СП, широко распространенных в клеточных стенках бурых морских водорослей [8–10]. Фукусковые водоросли в целом отличаются высоким содержанием антиоксидантных компонентов, кроме фукоиданов выделены полифенольные соединения — флоротанины, а также каротиноид фукоксантин [8,10,11]. В настоящее время дискуссионным остается вопрос о том, кому принадлежит приоритет в АОА — фукоиданам или связанным с ними полифенольным соединениям [8].

В ряде научных работ обоснованы способы получения и применения фукоидана для обогащения пищевых продуктов в составе измельченных водорослей или в виде очищенного препарата [10,12]. Для усиления биологической активности фукоидана используют различные приемы. Большой интерес вызывает использование ультразвука (УЗ) — сонификация. Сонификация влияет на степень полимеризации, на разрушение комплексов фукоидана с сопутствующими компонентами, а также на дисперсный состав и гелеобразующие свойства. УЗ-обработку используют для выделения фукоидана чаще всего при обработке непосредственно самих водорослей или же для деструкции уже очищенного СП [13–15].

Исследования, проведенные в мясной индустрии, показали, что введение СП в мышечные системы повышает потенциал использования сырья и продуктов, предотвращая окисление липидов [16]. При этом сведения, относящиеся к использованию фукоидана и его производных в рыбопродуктах в качестве структурообразователей и антиоксидантов, ограничены.

Целью данной работы являлось исследование синергетического воздействия экстрактов и гелей из фукусковых водорослей с различными уровнями антиоксидантной активности на окислительную деструкцию липидов и структурообразование в мышечной ткани рыб.

2. Объекты и методы

Объектами исследования выступали мелкодисперсный порошок бурой водоросли *Fucus evanescens* («ФармОушен Лаб», Партизанск, Россия); горбуша дальневосточная мороженая неразделанная *Oncorhynchus gorbuscha* («НЕВИС АРГО», Владивосток); фарш из филе горбуши, полученного после удаления внутренностей, кожи и костей (измельчение филе проводили бытовой электромясорубке).

Для обработки порошка фукуса использовали метод [17], модифицированный нами путем применения ультразвука (УЗ). Для этого сухой мелкодисперсный порошок фукуса промывали в дистиллированной воде для удаления избытка минеральных солей в течение 10 мин. Затем вновь добавляли дистиллированную воду в соотношении 1:10 (порошок: вода), экстрагировали водорастворимые компоненты в течение 4 часов при температуре 30–40 °С. Осадок отделяли фильтрованием, а экстракт высушивали путем сублимации (сублимационная сушилка FD-4 Xi'an Toption Instrument Co., Ltd, Китай). К осадку добавляли раствор 2% HCl в соотношении 1:10 (порошок: кислота) при температуре 30 °С, оставляли на 2 часа при периодическом перемешивании. Далее осадок промывали водой до pH 5,5–6 и добавляли 10% раствор Na₂CO₃ с pH 8,5±0,5 при соотношении порошок: раствор — 1:1. Затем смесь нагревали в течение 2 часов при температуре 40 °С. Полученный продукт представлял собой густой гель коричневого цвета.

Для обработки геля УЗ при обоснованных ранее параметрах [18] использовали ультразвуковой процессор Sonic Vibra Cell модели VCX 130 производства Sonics and Materials, Inc., США. Во избежание перегрева применяли охлаждающую рубашку для поддержания температуры не более 50 °С.

Вязкость (МПа·с) определяли с помощью ротационного вискозиметра серии NDJ (Laboao, Китай) с использованием ротора № 3 при скорости вращения 60 об/мин.

Для выявления реологических показателей (прочность, адгезивность и упругость) использовали текстурометр Брукфильда TexturePro CT3 (Ametek, США), зонд для определения TA18. Скорость погружения — 0,5 мм/с, глубина погружения в поверхность продукта — 5 мм.

Определение содержания фукозы проводили спектрофотометрическим методом по цветной реакции с L-цистеином и серной кислотой (спектрофотометр UV 1800, Shimadzu, Япония). Оптическую плотность полученных растворов измеряли при 393 нм и 430 нм. Для расчета количества фукоидана полученное значение умножали на 2, учитывая условное содержание фукозы в фукоидане, равное 50% [19].

Антиоксидантную активность в образцах измеряли по поглощению свободных радикалов с использованием 1,1-дифенил-2-пикрилгидразила (ДФПГ) по модифицированному методу Qwele [20]. Степень обесцвечивания растворов ДФПГ при добавлении образцов определяли спектрофотометрически при 517 нм. В качестве положительного контроля использовали витамин Е (α-токоферола ацетат). Активность удаления свободных радикалов (ингибирования) ДФПГ, выраженную в процентах, рассчитывали по формуле:

$$\text{Степень ингибирования ДФПГ} = [(A_0 - (A - A_K)/A_0) \times 100], \%, \quad (1)$$

где A_0 — оптическая плотность раствора ДФПГ без образца;

A — оптическая плотность образца с ДФПГ;

A_K — оптическая плотность образца без ДФПГ.

Определение первичных (ППО), вторичных (ВПО) продуктов перекисного окисления липидов и оснований Шиффа (ОШ) проводили

экстракционно-спектрофотометрическим методом [21] (спектрофотометр UV 1800, Shimadzu, Япония). Для этого образцы фаршей гомогенизировали с помощью погружного блендера HM-1000 (ECSI, Китай) при температуре + 4 °C с 0,9% раствором NaCl (в соотношении 1:10), содержащим 3 мМ ЭДТА. К 0,5 г гомогената добавляли 5 мл гептан-изопропаноловой смеси (1:1), встряхивали в течение 10–15 мин, центрифугировали в течение 10 мин при 1500 об/мин для освобождения от белкового осадка. Надосадочную жидкость разбавляли 5 мл гептан-изопропаноловой смеси (3:7) и смешивали с 2 мл раствора HCl (pH = 2,0). Через 30 мин декантировали верхнюю (гептановую) фазу, содержащую триглицериды (ТГ). К нижней (водно-спиртовой) фазе, содержащей фосфолипиды (ФЛ), добавляли 1 г сухого NaCl. Выдерживали 30 мин и декантировали изопропанольную фазу. Измеряли оптическую плотность обеих фаз при длинах волн 220, 232, 278 и 400 нм (спектрофотометр UV 1800, Shimadzu, Япония) против контроля, полученного по схеме приведенной экстракции, но без фарша.

Результаты выражали в единицах индексов окисления (ед.ИО):

- E_{232}/E_{220} — относительное содержание диеновых конъюгатов;
- E_{278}/E_{220} — относительное содержание и сопряженных триенов;
- E_{400}/E_{220} — относительное содержание оснований Шиффа.

Содержание малонового диальдегида (МДА) определяли по реакции с тиобарбитуровой кислотой (ТБК) спектрофотометрическим методом (спектрофотометр UV 1800, Shimadzu, Япония), как описано в работе [22]. Для этого 0,2 г образца смешивали с 1 мл бутанола в мерной колбе объемом 25 мл. 5,0 мл смеси помещали в пробирку и добавляли 5 мл 0,2% раствора ТБК в бутаноле. Пробирку закрывали, встряхивали и нагревали на водяной бане (UT-4308E, ULAB, Китай) при 95 °C в течение 2 часов, охлаждали в проточной воде, центрифугировали на центрифуге Supra 22K (Hanil Science Industrial, Южная Корея) при 6000 об/мин в течение 20 мин. Оптическую плотность супернатанта измеряли при длине волны 535 нм (спектрофотометр UV 1800, Shimadzu, Япония) против контрольной пробы. Величины содержания продуктов взаимодействия с ТБК выражали в мг МДА/кг образца.

Для приготовления опытных образцов фарш горбуши разделили на три части (по 300 г в каждой). Первая часть служила контролем без внесения дополнительных компонентов. Из второй части отбирали по 3 образца (100 г), к которым добавляли 5, 10 и 20% геля, содержащего фукоидан. Из третьей части отбирали по 3 образца (100 г), к которым добавляли 0,05%; 0,15%; 0,25% сублимированного водного экстракта к массе фарша. Фаршевые системы выдерживали 2 ч при комнатной температуре. После исследования свойств сырых фаршей проводили их термообработку на пару при 98 ± 2 °C в течение 15 мин.

Органолептическую оценку образцов осуществляла группа экспертов из 5–7 специалистов, имеющих высшее образование в области технологии рыбных продуктов, в соответствии с ГОСТ ISO 8586–20151. Эксперты оценивали следующие показатели: внешний вид, цвет, вкус, запах, консистенция.

Потери при тепловой обработке определяли путем расчета соотношения массы готового продукта по отношению к массе исходного сырья и выражали в процентах.

Для статистического анализа использовали прикладной пакет Statistica 6. Выборочные параметры, приводимые в таблицах: средняя арифметическая (M), стандартное отклонение (σ), объем анализируемой подгруппы (n). Уровень доверительной вероятности 95%.

3. Результаты и обсуждение

3.1. Состав и свойства продуктов переработки фукуса

Для исследования влияния продуктов переработки фукусовых водорослей на структурообразование и окисление липидов в мышечной ткани рыб были использованы гель, обогащенный фукоиданом, и сублимированный экстракт водорастворимых компонентов. Рациональные параметры сонификации, которые позволяют регулировать и АОА, и реологические свойства гелей, представлены в работе [18]. В Таблице 1 приведены данные о свойствах, полученных из мелкодисперсного порошка фукуса и препаратов, использованных в работе.

При разработке способа получения гелей были использованы варианты сониирования с варьированием уровня мощности УЗ от 65 до 130 Вт в интервалах времени от 5 до 30 мин при частоте 20 кГц. Рациональными были признаны следующие параметры: 20 кГц, 130 Вт, 20 мин. Такая обработка гелей привела к увеличению содержания фукоидана, к росту АОА и к значительным изменениям дисперсион-

Таблица 1. Свойства препаратов, полученных из порошка фукуса *F. Evanescons*

Table 1. Properties of preparations obtained from the powder of *F. evanescons*

Показатель	Продукт	Значение
Содержание фукоидана, % от исходной массы	Исходный порошок	8,4 ± 1,1
	Гель после УЗ обработки	20,4 ± 1,7
	Экстракт полифенолов сухой	2,1 ± 0,3
АОА, % на 1 мг сухих веществ	Исходный порошок	45,0 ± 0,4
	Гель после УЗ-обработки	64,7 ± 2,1
	Экстракт полифенолов сухой	91,4 ± 0,8
Динамическая вязкость, Мпа · с	Исходный порошок	—
	Гель после УЗ-обработки	1804,2 ± 17,8
	Экстракт полифенолов сухой	—
Прочность, г	Исходный порошок	—
	Гель после УЗ-обработки	16,50 ± 0,81
	Экстракт полифенолов сухой	—

Примечание: АОА% α -токоферола (эталоны сравнения) составила $80,0 \pm 0,5\%$ на 1 мг.; $n = 4$, $p < 0,05$.

ного состава гелей и реологических показателей. При этом происходило образование однородных гелей, которые оставались стабильными при хранении, а также нарастание их прочности и вязкости.

Есть обоснованное мнение, что при сониировании полисахаридов и их комплексов имеет место разрыв водородных связей, преобразование структуры и гидратация макромолекул, в результате чего образуются вязкие кластеры [23].

Приведенные результаты показывают, что полученные гели соответствуют требованиям концепции природных пищевых волокон с антиоксидантными свойствами. В их состав входит от 16 до 20% фукоидана от исходной массы. С учетом количества альгиновых соединений [4,5] общее количество ПВ составит не менее 50%, а величина АОА хорошо соотносится с таковой для α -токоферола.

Полученный на стадии экстракции комплекс полифенольных соединений (флоротаннинов) привлек наше внимание высокими значениями АОА. Поэтому было решено добавлять к рыбным фаршам кроме гелей этот препарат для изучения влияния на окислительные процессы липидов и на реологические свойства полуфабрикатов, а также готовых продуктов.

3.2. Влияние гелей и экстрактов фукуса на структурообразование в мышечной ткани рыб

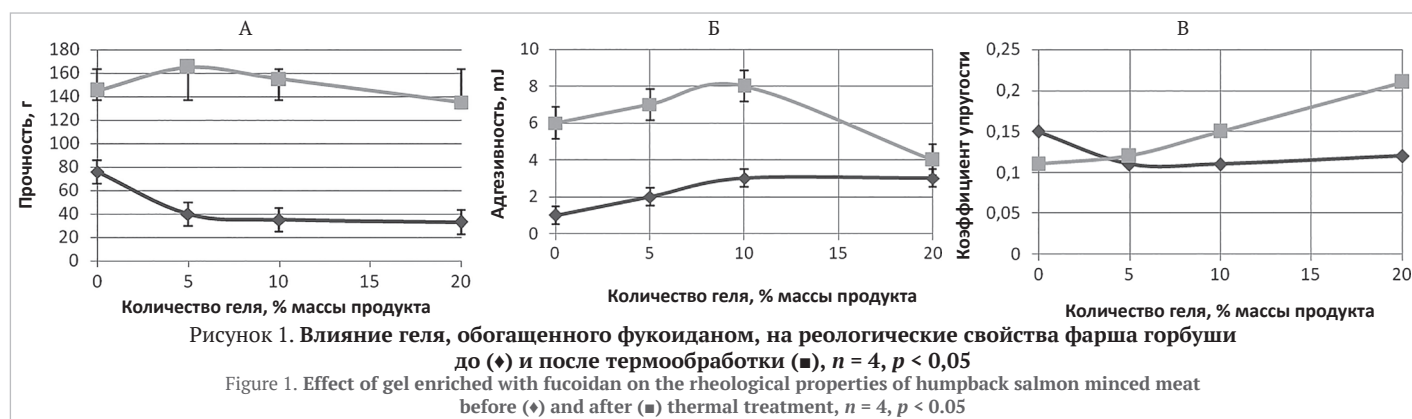
3.2.1. Влияние гелей

Сенсорная оценка образцов показала, что при добавлении гелей наблюдалось некоторое снижение интенсивности цвета фарша, тем не менее он оставался свойственным цвету мышечной ткани рыб лососевых пород. Также увеличение количества вносимых гелей вызывало размягчение фарша, однако при этом он лучше удерживал придаваемую ему форму. После термообработки на пару различия в качестве образцов заметно усилились. При этом цвет, вкус и запах были выражены практически одинаково. Но в присутствии 5% геля формировалась жесткая, резиноподобная текстура, дальнейшее увеличение количества геля до 10% придавало готовому продукту сочную, мягкую консистенцию, но уже при 20% он не удерживал форму, появлялись трещины.

Оценка органолептических показателей сырых и термообработанных изделий соответствовала инструментальным измерениям их реологических параметров (Рисунок 1).

Прочность сырых фаршей снижалась примерно в два раза. У термообработанных фаршей после некоторого роста прочность также уменьшалась. Этот эффект можно считать позитивным, так как он обеспечил более сочную и нежную консистенцию продукта (Рисунок 1А). Среди других показателей можно выделить адгезивность (Рисунок 1Б) и упругость (Рисунок 1В). При этом адгезивность и сырых, и термообработанных на пару образцов повышалась при увеличении концентрации геля до 10%, а затем резко снижалась для первых, но оставалась исходном уровне для вторых. Коэффициент упругости характеризует свойства продукта по восстановлению после деформации, при этом значение, равное 1, указывает на полностью эластичный материал, а значение 0 соответствует полностью вязкому материалу. Полученные сырые и отваренные продукты можно характеризовать как вязкие, но если у первых имело место увеличение вязкости, то у вторых — ее снижение. Наиболее вероятно эти изменения связаны с гелеобразованием в системе белки-полисахариды и с его изменениями после термообработки.

¹ ГОСТ ISO 8586–2015 «Общее руководство по составлению органолептического профиля». М.: Стандартиформ, 2015. — 29 с.



В пищевых системах, содержащих белки и липиды, фукоидан способен выступать в роли эмульгатора. Стабилизация эмульсий позволяет снизить потери при приготовлении или изменении кислотности среды, при этом снижается прочность, но усиливается адгезивность фаршей. Ранее было показано, что такие гидроколлоиды, как альгинаты и каррагинаны, образуют пространственную структурную сетку, параллельную белковой сети миофибриллярных белков. Эта сетка обладает эластичностью, способностью изгибаться и сворачиваться, оказывая меньшее сопротивление внешнему воздействию [24]. Также стабильность комплексов гидроколлоидов с другими биополимерами, главным образом белками, зависит от электростатического связывания отрицательных зарядов молекул фукоидана и поверхностных зарядов белков [10,25,26]. Сравнение полученных результатов и литературных данных позволяет предположить, что фукоидан при взаимодействии с компонентами мышечной ткани также способен образовывать собственную пространственную структуру.

3.2.2. Влияние экстрактов

Высокие значения АОА сухого экстракта определили возможность использования его в низких концентрациях (0,05%; 0,15%; 0,25% от массы). Однако даже такие низкие концентрации вызвали значительные изменения в текстуре образцов фарша с его добавлением. По органолептическим показателям все опытные образцы имели оттенки цвета, характерного для мяса лососевых рыб. Увеличение концентрации экстракта не вызвало различий в сенсорных характеристиках образцов. Главным их отличием от контрольных образцов было то, что они почти полностью теряли способность к формообразованию, что связано с резким снижением водоудерживающей способности белков.

При добавлении в сырой фарш экстракта фукуса наблюдали снижение прочности и уменьшение упругости при повышении адгезивности (Рисунок 2). Увеличение количества добавки, внесенной в исследуемые образцы, не повлияло на изменение реологических показателей. Внесение сухого экстракта обеспечило снижение прочности (Рисунок 2А) готовых изделий почти в 5 раз при заметном увеличении адгезивности (Рисунок 2Б) и упругости (Рисунок 2В). По сравнению с контролем образцы были более мягкими и однородными.

3.3. Влияние гелей и экстрактов фукуса на свойства рыбного фарша при хранении

Образцы сырых фаршей с добавлением 10% геля фукоидана и 0,05% сухого экстракта были заложены на морозильное хранение при температуре -18°C .

Изменения органолептических свойств, сопутствовавшие морозильному хранению в течение 5 месяцев, выразились в постепенном изменении цвета фарша от розового до оранжевого, а запах приоб-

ретал слабо выраженные оттенки окисления для контроля и образцов с гелем. Образцы с добавлением экстракта к пятому месяцу приобрели серовато-оранжевый цвет, а запах имел явно выраженную прогорклость. После термообработки хранившихся образцов наиболее привлекательным вкусом (сочным, мягким и ароматным) обладали изделия с добавлением геля, контрольные образцы были суховатыми с менее выраженным вкусом. Образцы с добавлением экстракта признаны неудовлетворительными.

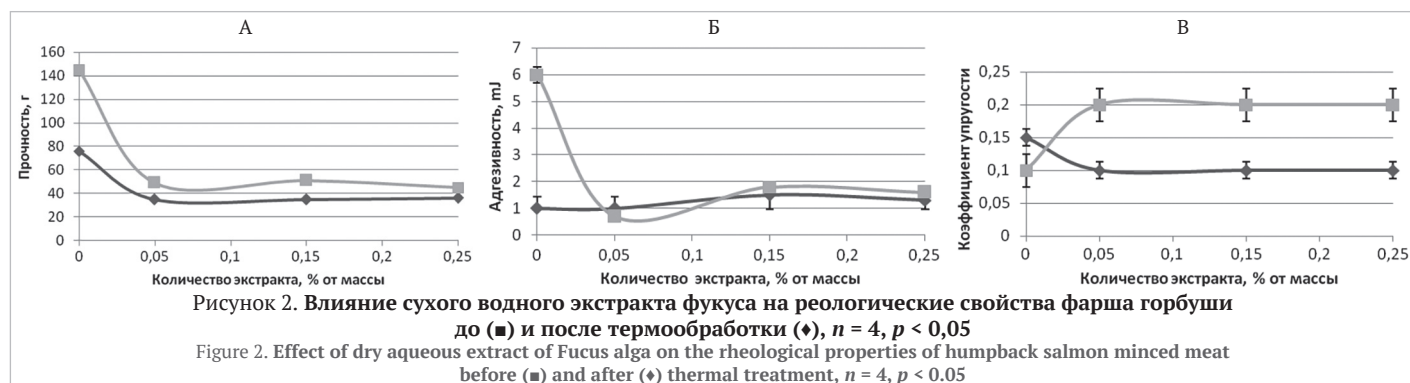
Потери при тепловой обработке для контрольных образцов выросли за период хранения от 15,2 до 24% массы, при добавлении геля — от 9,4 до 13% и при добавлении экстракта — от 12,1 до 22,0%. Эти данные указывают на высокую способность фукоидана удерживать влагу в фарше рыб, сохраняющуюся при морозильном хранении и при термообработке.

Прочность образцов возрастала во всех случаях по мере увеличения срока хранения. Наибольшее увеличение этого показателя выявлено для контрольного образца, а наименьшее — для образцов с добавлением геля. После варки этот показатель имел обратную тенденцию для образцов с добавлением геля и для контрольных, снижаясь более чем в 2 раза в обоих случаях. Для образцов с добавлением экстракта прочность повысилась почти в 2 раза уже через 1 месяц хранения и осталась на прежнем уровне в дальнейшем.

3.3.1. Влияние гелей и экстрактов фукуса на окисление липидов в мышечной ткани рыб

Сложность процесса окисления липидов связана с большим разнообразием образующихся молекул, а также с различными факторами, которые на это влияют. Спектрофотометрический анализ позволяет определить в одной пробе биологического материала различные продукты перекисного окисления липидов: ППО — диеновые конъюгаты (гидроперекиси липидов), ВПО — кетодиены и сопряженные триены (альдегиды, кетоны, спирты, эпоксиды), и конечные — основания Шиффа. Последние образуются в результате обратимой реакции между карбонильной группой альдегида или кетона со свободной аминоруппой. Накопление ОШ дестабилизирует мембраны и способствует деструкции клеток [3,6,7]. Вещества, реагирующие с тиобарбитуровой кислотой, — еще одна группа продуктов окислительной деструкции липидов. Основным компонент этой группы МДА — маркер интенсивности свободнорадикального окисления, который активно взаимодействует с белками, вызывая их денатурацию.

Морозильное хранение является одним из основных методов консервации пищевого сырья и продуктов, при котором практически полностью прекращается микробиологическая порча, однако окисление жиров может продолжаться. Основная причина окисле-



ния липидов при морозильном хранении связана с протеканием реакции ферментативного липолиза [7,27].

В последние годы стало очевидно, что существуют значительные различия между окислительными процессами, происходящими в ТГ и в ФЛ. Последние являются более ненасыщенными, чем ТГ, а площадь поверхности, на которой они подвергаются воздействию водной фазы, содержащей прооксиданты, примерно в 50–100 раз превышает площадь поверхности жировых частиц ТГ [28,29]. Окисление ФЛ может в дальнейшем распространяться на фракцию ТГ в мышечной ткани [30,31]. Разделение жировой фракции на гептановую и изопропаноловую фазы делает возможным определение продуктов липопероксидации в различных классах липидов.

На Рисунке 3 показано влияние геля фукоидана и экстракта полифенолов на динамику окисления ТГ и ФЛ в образцах фарша горбуши при морозильном хранении.

Результаты показывают, что процессы окисления ТГ в контроле и при добавлении геля имеют сходный характер. Существенные различия появляются только к пятому месяцу хранения, когда величина индекса окисления ППО в первом случае растет, а во втором снижается. Для ВПО и ОШ в этих образцах различия незначительны. При добавлении экстракта при начальном снижении и ППО, и ВПО (2 месяца) имеет место наибольшее накопление этих компонентов к концу 5 месяцев хранения.

При рассмотрении динамики окисления ФЛ накопление ППО и ВПО наблюдается при сроке хранения 2 месяца, а затем также резко снижается. Максимальная величина этих показателей выявлена в образцах с добавлением экстракта.

На Рисунке 4 показана динамика накопления МДА, показателя, наиболее часто используемого для оценки интенсивности окислительных процессов, как в живых организмах, так и в пищевом сырье и продуктах. В этом случае наблюдаемые различия наиболее

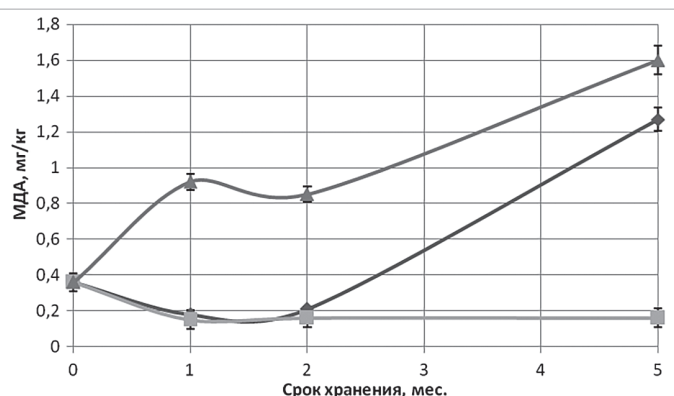


Рисунок 4. Динамика накопления МДА в образцах фарша горбуши при морозильном хранении (при температуре -18°C): контроль (♦), 10% геля (■), 0,05% экстракта (▲), $n = 4$, $p < 0,05$

Figure 4. Dynamics of MDA accumulation in the samples of humpback salmon minced meat during frozen storage (at a temperature of -18°C): control (♦), 10% of gel (■), 0.05% of the extract (▲), $n = 4$, $p < 0.05$

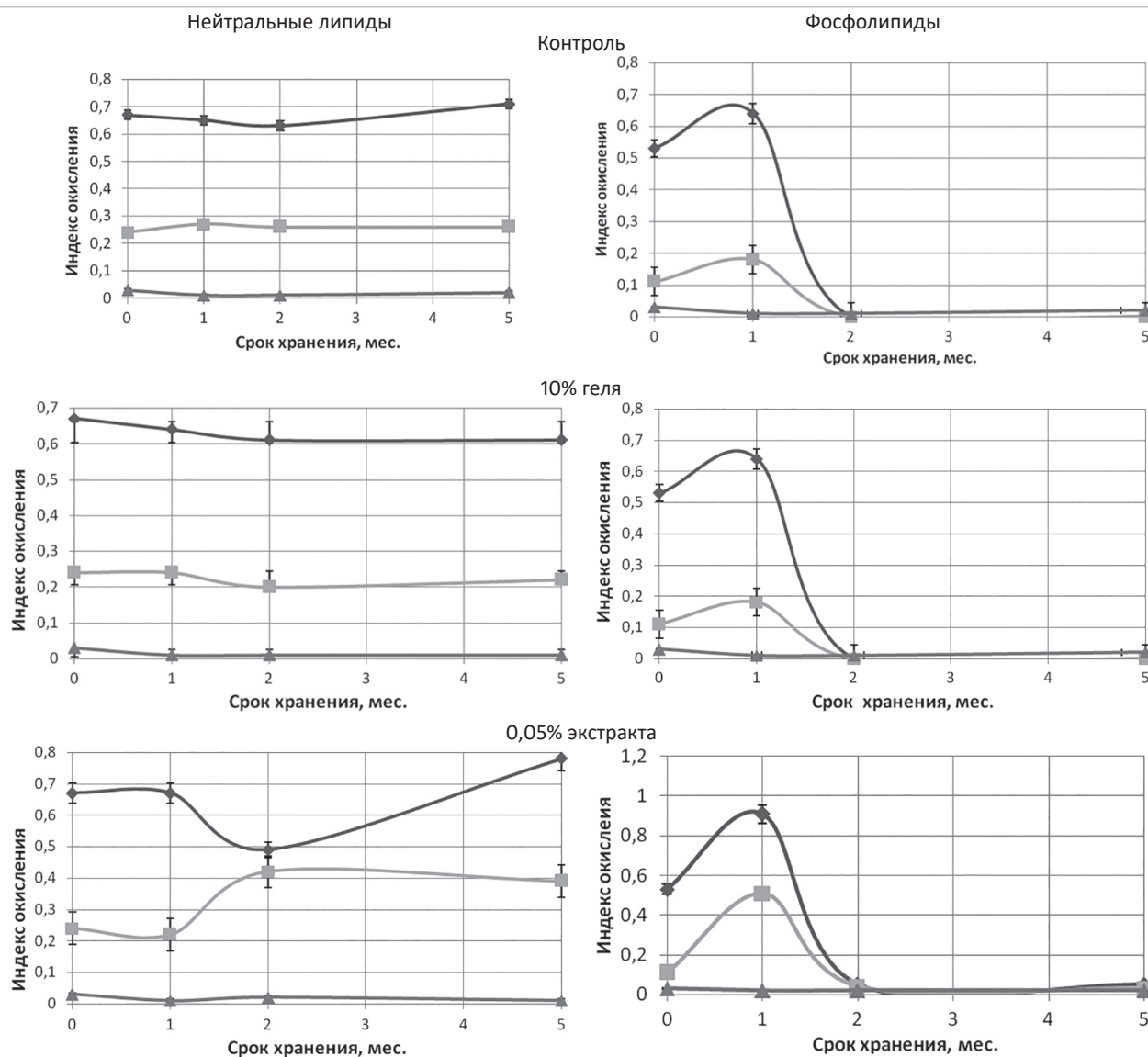


Рисунок 3. Динамика окисления липидов в образцах фарша горбуши при морозильном хранении (при температуре -18°C): первичные продукты окисления (♦), вторичные продукты окисления (■), основания Шиффа (▲), $n = 4$, $p < 0,05$

Figure 3. Dynamics of lipid oxidation in the samples of humpback salmon minced meat during frozen storage (at a temperature of -18°C): primary oxidation products (♦), secondary oxidation products (■), Schiff bases (▲), $n = 4$, $p < 0.05$

очевидны. Они позволяют говорить о выраженном защитном действии фукоидана, поскольку в образцах с его добавлением уровень МДА снизился к первому месяцу хранения и сохранял прежние значения в течение всего срока. Для контрольного образца после аналогичного снижения через 2 месяца происходил выраженный рост уровня МДА (в 2,5 раза).

После добавления экстракта наблюдали еще более высокую интенсивность процессов окисления, что позволяет говорить о проокислительном действии полифенолов фукуса в данной системе. При этом тенденция накопления МДА в целом совпадает с таковой для ППО во фракции ТГ. По данным ряда авторов, рыбные продукты, содержащие менее 0,58 мг МДА на 1 кг, воспринимаются как не прогорклые; при 0,58–1,51 мг/кг — как слегка прогорклые, но приемлемые; а при значениях выше 1,51 мг/кг — как прогорклые [3,28,30]. Полученные нами данные соответствуют этой шкале. Хранение образцов с добавлением геля продолжается.

Полученные результаты подтверждают, что начальные окислительные изменения затрагивают ФЛ, а затем распространяются на ТГ, в конечном итоге деградация гидроперекисей липидов приводит к увеличению выработки МДА. Фукоидан при добавлении в рыбный фарш проявил антиоксидантные свойства. Механизм АОА СП изучен недостаточно, однако есть предположения, что основное значение имеет реакция переноса электронов из отрицательно заряженных сульфатных групп СП [11,32]. Таким образом, выявлен защитный эффект фукоидана от повреждения радикалами путем инактивации супероксидных радикалов в мышечной ткани рыб.

Также очевидным является проокислительное действие водного экстракта полифенолов фукуса, ускоряющего процессы окисления в рыбном фарше. Доказано, что в зависимости от концентрации один и тот же антиоксидант может тормозить или ускорять окисление. Такие свойства по отношению к окислению липидов были уста-

новлены для токоферолов, витамина А, каротиноидов, убихинона и аскорбиновой кислоты [33].

4. Выводы

Итогом проведенных исследований является теоретическое и экспериментальное обоснование применения продуктов переработки фукусковых водорослей, а именно гелей, обработанных УЗ, для улучшения органолептических и реологических свойств рыбных фаршей, предлагаемых для получения формованных рыбных изделий. Кроме того, использование таких гелей способствует повышению устойчивости компонентов мышечной ткани рыб к окислительным процессам. Внесение гелей в состав фаршевых смесей из мышечной ткани горбуши обеспечило возможность регулирования их вязкоупругих характеристик (прочности, адгезивности и упругости), что оказало положительное влияние на консистенцию полуфабрикатов и готовых изделий. Стабилизация текстуры измельченной мышечной ткани рыб обеспечивается гидроколлоидной природой фукоидана и способностью к образованию собственной пространственной структуры. Внесение сухих экстрактов полифенолов привело к утрате способности к формообразованию, связанной с резким снижением водоудерживающей способности белков. Исследование динамики накопления ППО, ВПО, ОШ и МДА в процессе морозильного хранения показало, что начальные окислительные изменения в фарше горбуши затрагивают ФЛ, затем распространяются на ТГ, и в итоге ведут к накоплению МДА. При этом фукоидан обеспечил противодействие окислению липидов, а экстракт полифенолов проявил проокислительные свойства, что выразилось в образовании высоких концентраций МДА, создающих вкус и запах прогорклости. Полученные результаты позволяют рекомендовать использование гелей фукоидана для создания функциональных продуктов и сохранения их качества при морозильном хранении.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК/ REFERENCES

1. Пивненко, Т. Н. (2023). Функциональные свойства пищевых волокон и их применение в технологии рыбной продукции. *Пищевые системы*, 6(2), 235–244. [Pivnenko, T. N. (2023). Functional properties of the dietary fibers and their using in the manufacturing technology of fish products. *Food Systems*, 6(2), 235–244. (In Russian)] <https://doi.org/10.21525/2618-9771-2023-6-2-235-244>
2. Hematyar, N., Rustad, T., Sampels, S., Dalsgaard, T. K. (2019). Relationship between lipid and protein oxidation in fish. *Aquaculture Research*, 50(5), 1393–1403. <https://doi.org/10.1111/are.14012>
3. Secchi, G., Parisi, G. (2016). From farm to fork: Lipid oxidation in fish products. A review. *Italian Journal of Animal Science*, 15(1), 124–136. <https://doi.org/10.1008/1828051X.2015.1128687>
4. Eskicioglu, V., Kamiloglu, S., Nilufer-Erdil, D. (2015). Antioxidant dietary fibres: Potential functional food ingredients from plant processing by-products. *Czech Journal of Food Sciences*, 33(6), 487–499. <https://doi.org/10.17221/42/2015-CJFS>
5. Saura-Calixto, F. (1998). Antioxidant dietary fiber product: A new concept and a potential food ingredient. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46(10), 4303–4306. <https://doi.org/10.1021/jf9803841>
6. Rahal, A., Kumar, A., Singh, V., Yadav, B., Tiwari, R., Chakraborty, S. et al. (2014). Oxidative stress, prooxidants, and antioxidants: The interplay. *BioMed Research International*, V. 2014, Article 761264. <https://doi.org/10.1155/2014/761264>
7. Undeland, I. (2016). Oxidative Stability of Seafood. Chapter in a book: *Oxidative Stability and Shelf Life of Foods Containing Oils and Fats*. Academic Press and AOCS Press, 2016. <http://doi.org/10.1016/B978-1-63067-056-6.00011-2>
8. Imbs, T. I., Ermakova, S. P. (2021). Can fucoidans of brown algae be considered as antioxidants? *Russian Journal of Marine Biology*, 47(3), 157–161. <https://doi.org/10.1134/S1063074021030056>
9. López-Marcos, M. C., Bailina, C., Viuda-Martos, M., Pérez-Alvarez, J. A., Fernández-López, J. (2015). Properties of dietary fibers from agroindustrial co-products as source for fiber-enriched foods. *Food and Bioprocess Technology*, 8, 2400–2408. <https://doi.org/10.1007/s11947-015-1591-z>
10. Mensah, E. O., Kanwugu, O. N., Panda, P. K., Adadi, P. (2023). Marine fucoidans: Structural, extraction, biological activities and their applications in the food industry. *Food Hydrocolloids*, 142, Article 108784. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2023.108784>
11. Боголюбин, К. Г., Дружинина, А. С., Овчинников, Д. В., Паршина, А. Э., Шульгина, Е. В., Турова, П. Н. и др. (2019). Полифенолы арктических бурых водорослей: выделение, полимолекулярный состав. *Химия растительного сырья*, 4, 65–75. [Bogolitsin, K. G., Druzhinina, A. S., Ovchinnikov, D. V., Parshina, A. E., Shulgina, E. V., Turova, P. N. et al. (2019). Polyphenols of arctic brown algae: Extraction, polymolecular composition. *Khimiya Rastitel'nogo Syr'ya*, 4, 65–75. (In Russian)] <https://doi.org/10.14258/jcprm.2019045135>
12. Anisha, G. S., Padmakumari, S., Patel, A. K., Pandey, A., Singhania, R. R. (2022). Fucoidan from marine macroalgae: Biological actions and applications in regenerative medicine, drug delivery systems and food industry. *Bioengineering*, 9(9), Article 472. <https://doi.org/10.3390/bioengineering9090472>
13. Hmelkov, A., Zvyagintseva, T., Shevchenko, N., Rasin, A. B., Ermakova, S. (2018). Ultrasound-assisted extraction of polysaccharides from brown alga *Fucus evanescens*. Structure and biological activity of the new fucoidan fractions. *Journal of Applied Phycology*, 30(3), 2039–2046. <https://doi.org/10.1007/s10811-017-1342-9>
14. Thao My, P. L., Sung, V. V., Dat, T. D., Nam, H. M., Phong, M. T., Hieu, N. H. (2020). Ultrasound-assisted extraction of fucoidan from Vietnamese brown seaweed *Sargassum macleurei* and testing bioactivities of the extract. *ChemistrySelect*, 5(14), 4371–4380. <https://doi.org/10.1002/slct.201903818>
15. Suprunchuk, V. (2021). Ultrasonic-treated fucoidan as a promising therapeutic agent. *Polimers in Medicine*, 51(2), 85–90. <https://doi.org/10.17219/pim/143961>
16. Moroney, N. C., O'Grady, M. N., Lordan, S., Stanton, C., Kerry, J. P. (2015). Seaweed polysaccharides (Laminarin and Fucoidan) as functional ingredients in pork meat: An evaluation of anti-oxidative potential, thermal stability and bioaccessibility. *Marine Drugs*, 13(4), 2447–2464. <https://doi.org/10.3390/md13042447>
17. Вафина, Л.Х., Подкорытова, А. В. (2009). Новые продукты функционального питания на основе биоактивных компонентов морских водорослей. *Известия ТИНРО*, 156, 348–356. [Vafina, L. Kh., Podkorytova, A. V. (2009). New products of functional nutrition on the basis of bioactive substances from brown algae. *Izvestiya TINRO*, 156, 348–356. (In Russian)]
18. Пивненко, Т. Н., Позднякова, Ю. М., Есипенко, Р. В. (2024). Влияние сонификации на фракционный состав, физико-химические свойства и антиоксидантную активность функциональных гелей из фукусковых водорослей. *Научные труды Дальрыбвтуза*, 68(2), 6–18. [Pivnenko, T. N., Pozdnyakova, Yu. M., Esipenko, R. V. (2024). The influence of sonification on the fractional composition, physicochemical properties and antioxidant activity of functional fucus algae gels. *Scientific Journal of the Far East State Technical Fisheries University*, 68(2), 6–18. (In Russian)] <https://doi.org/10.48612/dalrybvtuz/2024-68-01>
19. Табакаев, А. В., Табакаева, О. В. (2022). Сухие напитки на основе экстрактов бурых водорослей Японского моря и плодово-ягодных соков как функциональные продукты. *Вопросы питания*, 91(4), 107–114. [Tabakaev, A. V., Tabakaeva, O. V. (2022). Instant drinks based on extracts of Japan sea brown algae and fruit and berry juices as functional products. *Voprosy Pitaniia [Problems of Nutrition]*, 91(4), 107–114. (In Russian)] <https://doi.org/10.33029/0042-8833-2022-91-4-107-114>
20. Qwele, K., Hugo, A., Oyedemi, S. O., Moyo, B., Masika, P. J., Muchenje, V. (2013). Chemical composition, fatty acid content and antioxidant potential of meat from goats supplemented with Moringa (*Moringa oleifera*) leaves, sunflower cake and grass hay. *Meat Science*, 93(3), 455–462. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2012.11.009>
21. Донская, Г. А., Креккер, Л. Г., Дрозжин, В. М., Колосова, Е. В. (2022). Перекисное окисление липидов и термообработка молока для приготовления кисломолочного продукта смешанного брожения. *Вестник КраСГАУ*, 5(182), 226–233. [Donskaya, G. A., Krekker, L. G., Drozhzhin, V. M., Kolosova, E. V. (2022). Lipid peroxidation and milk heat treatment to prepare fermented milk product of mixed fermentation. *Bulletin of KSAU*, 5(182), 226–233. (In Russian)] <https://doi.org/10.36718/1819-4036-2022-5-226-233>
22. Ulu, H. (2004). Evaluating of three 2-thiobarbituric acid methods for the measurement of lipid oxidation in various meats and meat products. *Meat Science*, 67(4), 683–687. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2003.12.014>
23. Ogutu, F. O., Mu, T.-H., Elahi, R., Zhang, M., Sun, H.-N. (2015). Ultrasonic modification of selected polysaccharides — review. *Journal of Food Processing and Technology*, 6, Article 446. <https://doi.org/10.4172/2157-7110.1000446>
24. Montero, P., Hurtado, J. L., Pérez-Mateos, M. (2000). Microstructural behaviour and gelling characteristics of myosystem protein gels interacting with hydro-

- colloids. *Food Hydrocolloids*, 14(5), 455–461. [https://doi.org/10.1016/S0268-005X\(00\)00025-4](https://doi.org/10.1016/S0268-005X(00)00025-4)
25. Cortez-Trejo, M. C., Gaytan-Martinez, M., Reyes-Vega, M. L., Mondoza, S. (2021) Protein-gum-based gels: Effect of gum addition on microstructure, rheological properties, and water retention capacity. *Trends in Food Science and Technology*, 116, 303–317. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2021.07.030>
 26. Alipour, H. J., Rezaei, M., Shabanpour, B., Tabarsa, M. E. (2018). Effects of sulfated polysaccharides from green alga *Ulva intestinalis* on physicochemical properties and microstructure of silver carp surimi. *Food Hydrocolloids*, 74, 87–96. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2017.07.038>
 27. Etemadian, Y., Shabanpour, B. (2014). Changes in physicochemical properties and shelf life bility of kutum (*Rutilus frisiikutum*) slices during packaging and storage in ice. *Journal of Food Processing and Preservation*, 38(1), 159–168. <https://doi.org/10.1111/j.1745-4549.2012.00760.x>
 28. Hultin, H. O. (1994). Oxidation of lipids in seafoods. Chapter in a book: Seafoods: Chemistry, Processing Technology and Quality. Springer, Boston, MA, 1994. https://doi.org/10.1007/978-1-4615-2181-5_5
 29. Geng, L., Liu, K., Zhang, H. (2023) Lipid oxidation in foods and its implications on proteins. *Frontiers in Nutrition*, 10, Article 1192199. <https://doi.org/10.3389/fnut.2023.1192199>
 30. Ashton, I. (2002). Understanding lipid oxidation in fish. Chapter in a book: Safety and Quality Issues in Fish Processing. Woodhead Publishing Ltd, Cambridge, UK, 2002. <https://doi.org/10.1533/9781855736788.2.254>
 31. Lu, H. F. S., Nielsen, N. S., Baron, C. P., Jacobsen, C. (2017). Marine phospholipids: The current understanding of their oxidation mechanisms and potential uses for food fortification. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 57(10), 2057–2070. <https://doi.org/10.1080/10408398.2014.925422>
 32. Pozharitskaya, O. N., Obluchinskaya, E. D., Shikov, A. N. (2020). Mechanisms of bioactivities of fucoidan from the brown seaweed *Fucus vesiculosus* L. of the Barents Sea. *Marine Drugs*, 18, Article 275. <https://doi.org/10.3390/md18050275>
 33. Andrés, C. M. C., de la Lastra, J. M. P., Juan, C. A., Plou, F. J., Pérez-Lebeña E. (2023). Polyphenols as antioxidant/pro-oxidant compounds and donors of reducing species: Relationship with human antioxidant metabolism. *Processes*, 11(9). Article 2771. <https://doi.org/10.3390/pr11092771>

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ	AUTHOR INFORMATION
Принадлежность к организации	Affiliation
Пивненко Татьяна Николаевна — доктор биологических наук, профессор, профессор, кафедра «Пищевая биотехнология», Дальневосточный государственный технический рыбохозяйственный университет (Дальрыбвтуз) 690087, Владивосток, Луговая, 52-Б Тел.: +7–924–230–25–34 E-mail: tnpivnenko@mail.ru ORCID: http://orcid.org/0000-0002-0330-489X Позднякова Юлия Михайловна — кандидат технических наук, директор НИИ инновационных биотехнологий, Дальневосточный государственный технический рыбохозяйственный университет (Дальрыбвтуз) 690087, Владивосток, Луговая, 52-Б Тел.: +7–924–233–30–29 E-mail: pozdnyakova.julia@yandex.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0002-9078-0850 Есипенко Роман Владимирович — кандидат технических наук, научный сотрудник, научно-инновационный центр «Морские биотехнологии», Дальневосточный государственный технический рыбохозяйственный университет («Дальрыбвтуз») Тел. +7–914–710–18–71 E-mail: azt@bk.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0002-8263-6939	Pivnenko Tatiana Nikolaevna, Doctor of Biological Sciences, Professor, Professor, Department «Food Biotechnology», Far Eastern State Technical Fisheries University (Dalrybvtuz) 52-B, Lugovaya str., Vladivostok, 690087, Russia Tel.: +7–924–230–25–34 E-mail: tnpivnenko@mail.ru ORCID: http://orcid.org/0000-0002-0330-489X Pozdnyakova Yuliya Mikhaylovna, Candidate of Technical Sciences, Director, Innovative Biotechnologies Institute, Far Eastern State Technical Fisheries University («Dalrybvtus») 52-B, Lugovaya str., Vladivostok, 690087, Russia Tel.: +79–24–233–30–29 E-mail: pozdnyakova.julia@yandex.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0002-9078-0850 Esipenko Roman Vladimirovich, Candidate of Technical Sciences, Researcher, Scientific and Innovation Center «Marine Bio-technologies», Far Eastern State Technical Fisheries University («Dalrybvtus») 52-B, Lugovaya str., Vladivostok, 690087, Russia Tel.: +7–914–710–18–71, E-mail: azt@bk.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0002-8263-6939
Критерии авторства	Contribution
Авторы в равных долях имеют отношение к написанию рукописи и одинаково несут ответственность за плагиат.	The author has the sole responsibility for writing the manuscript and is responsible for plagiarism.
Конфликт интересов	Conflict of interest
Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.	The authors declare no conflict of interest.

DOI: <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2025-8-1-106-113>



Received 28.07.2024

Accepted in revised 21.03.2025

Accepted for publication 24.03.2025

© Isoje E. F., Okoro I. O., Ali B. M. Ali, Edo G. I., Yousif E., Okpoghono J., Okoro E. O., Okom S. U., Essaghah A. E.A., Umar H., Owheruo J. O., Akpogheli P. O., Ahmed D. S., 2025

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

Original scientific article

Open access

BIOCHEMICAL CHANGES IN RATS AFTER TREATMENT WITH SOFT DRINK AND MENTHOL FLAVOURED CANDY

Endurance F. Isoje¹, Israel O. Okoro², Ali B. M. Ali³, Great I. Edo^{4,*}, Emad Yousif⁵, Joel Okpoghono¹, Edith O. Okoro⁶, Solomon U. Okom⁷, Arthur E. A. Essaghah⁸, Huzaifa Umar⁹, Joseph O. Owheruo¹⁰, Patrick O. Akpogheli¹⁰, Dina S. Ahmed¹¹

¹ Department of Biochemistry, Faculty of Science, Delta State University of Science and Technology, Ozoro, Delta State, Nigeria

² Department of Biochemistry, Faculty of Science, Delta State University, Abraka, Delta State, Nigeria

³ Department of Air Conditioning Engineering, Faculty of Engineering, Warith Al-Anbiyaa University, Karbala, Iraq

⁴ Department of Chemistry, Faculty of Science, Delta State University of Science and Technology, Ozoro, Delta State, Nigeria

⁵ Department of Chemistry, College of Sciences, Al-Nahrain University, Baghdad, Iraq

⁶ Department of Medical Laboratory Science, Delta State University, Abraka, Delta State, Nigeria

⁷ Department of Biochemistry, Faculty of Science, Delta State University of Science and Technology, Ozoro, Delta State, Nigeria

⁸ Department of Urban and Regional Planning, Faculty of Environmental Sciences, Delta State University of Science and Technology, Ozoro, Delta State, Nigeria

⁹ Operational Research Centre in Healthcare, Near East University, Nicosia, Cyprus

¹⁰ Faculty of Science, Department of Food Science and Technology, Delta State University of Science and Technology, Ozoro, Nigeria

¹¹ Department of Chemical Industries, Institute of Technology-Baghdad, Middle Technical University, Baghdad, Iraq

KEY WORDS:
menthol candy,
soft drink,
transaminases,
lipid profile

ABSTRACT

The current study looked at the biochemical variations that occurred in rats after they were given menthol flavoured candies and soft drinks. Seventy male Wistar albino rats in total were acquired, split up into ten treatments of seven rats each, and treated with the following regimen for forty-two days. Group 1 is the control. Groups 2, 3, and 4 received 8, 5, and 2.5 ml of La Casera/kg body weight. Groups 5, 6, and 7 received 0.34, 0.22, and 0.11 g of Tom-Tom/kg body weight. The dosages for groups 8, 9, and 10 were 8, 5, and 2.5 ml of La Casera/kg body weight, as well as 0.34, 0.22, and 0.11 g of Tom-Tom/kg body weight correspondingly. The results showed that the groups given Tom-Tom and La Casera had lower levels of total protein (TP) and albumin (Alb), and significantly ($p < 0.05$) higher serum levels of alanine transaminase (ALT), aspartate transaminase (AST), alkaline phosphatase (ALP), total cholesterol (T-Chol), triacylglycerol (TAG), and low-density lipoprotein cholesterol (LDL-C). Furthermore, there was a substantial ($p < 0.05$) increase in the serum levels of TP, Alb, and ALT between groups 7 and 5. Prolonged use of Tom-Tom mixed with La Casera should be avoided due to the detrimental alterations in biochemical parameters and subsequent health repercussions.

Поступила 28.07.2024

Поступила после рецензирования 21.03.2025

Принята в печать 24.03.2025

© Исоджи Э. Ф., Окоро И. О., Али, Б. М. А., Эдо Г. И., Юсиф Э., Окпогхон Дж., Окоро Э. О., Оком С. У., Эссагах А. Э.А., Кумар Х., Оверуо Дж. О., Акпогели П. О., Ахмед Д. С., 2025

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

Научная статья

Open access

БИОХИМИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ У КРЫС ПОСЛЕ УПОТРЕБЛЕНИЯ ГАЗИРОВАННОГО НАПИТКА И МЕНТОЛОВЫХ КОНФЕТ

Исоджи Э. Ф.¹, Окоро И. О.², Али, Б. М. А.³, Эдо Г. И.^{4,*}, Юсиф Э.⁵, Окпогхон Дж.¹, Окоро Э. О.⁶, Оком С. У.⁷, Эссагах А. Э.А.⁸, Умар Х.⁹, Оверуо Дж.О.¹⁰, Акпогели П. О.¹⁰, Ахмед Д. С.¹¹

¹ Кафедра биохимии, факультет естественных наук, Университет науки и технологий штата Дельта, Озоро, штат Дельта, Нигерия

² Кафедра биохимии, факультет естественных наук, Университет штата Дельта, Абрака, штат Дельта, Нигерия

³ Кафедра систем кондиционирования воздуха, инженерный факультет, Университет Варит Аль-Анбия, Кербела, Ирак

⁴ Кафедра химии, факультет естественных наук, Университет науки и технологий штата Дельта, Озоро, штат Дельта, Нигерия

⁵ Химический факультет, Колледж естественных наук Университет Аль-Нахраин, Багдад, Ирак

⁶ Кафедра медицинских лабораторных наук, факультет естественных наук, Университет штата Дельта, Абрака, штат Дельта, Нигерия

⁷ Кафедра биохимии, факультет естественных наук, Университет науки и технологий штата Дельта, Озоро, штат Дельта, Нигерия

⁸ Кафедра городского и регионального планирования, факультет экологических наук, Университет науки и технологий штата Дельта, Озоро, штат Дельта, Нигерия

⁹ Центр оперативных исследований в области здравоохранения, Ближневосточный университет, Никозия, Кипр

¹⁰ Кафедра естественных наук, факультет пищевой науки и технологии, Государственный университет науки и технологии Дельта, Озоро, Нигерия

¹¹ Факультет химической промышленности, Технологический институт Багдада, Средний технический университет, Багдад, Ирак

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: АННОТАЦИЯ

ментоловые конфеты, В текущем исследовании изучались биохимические изменения, имевшие место у крыс после того, как им давали ментоловые конфеты и газированный напиток. Всего было получено семьдесят самцов крыс-альбиносов породы Вистар, разделенных на десять групп по семь крыс в каждой. Эксперимент проводился по описанной ниже схеме в течение сорока двух дней. Группа 1 — контрольная. Группы 2, 3 и 4 получали 8, 5 и 2,5 мл напитка «La Casera»/кг веса. Группы 5, 6 и 7 получали 0,34, 0,22 и 0,11 г конфет «Том-Том»/кг веса. Дозировки для групп 8, 9 и 10 составляли 8, 5 и 2,5 мл напитка

FOR CITATION: Isoje, E. F., Okoro, I. O., Али, Б. М. А., Edo, G.I., Yousif, E., Okpoghono, J. et al. (2025). Biochemical changes in rats after treatment with soft drink and menthol flavoured candy. *Food Systems*, 8(1), 106–113. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2025-8-1-106-113>

ДЛЯ ЦИТИРОВАНИЯ: Исоджи, Э. Ф., Окоро, И. О., Али, Б. М. А., Эдо, Г. И., Юсиф, Э., Окпогхон, Дж. и др. (2025). Биохимические изменения у крыс после употребления газированного напитка и ментоловых конфет. *Пищевые системы*, 8(1), 106–113. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2025-8-1-106-113>

«La Casera»/кг веса, а также 0,34, 0,22 и 0,11 г конфет «Том-Том»/кг веса, соответственно. Результаты показали, что в сыворотке крови у крыс, которым давали «Том-Том» и «La Casera», наблюдались более низкие уровни общего белка (TP) и альбумина (Alb), и значительно ($p < 0,05$) более высокие уровни аланинаминотрансферазы (ALT), аспартатаминотрансферазы (AST), щелочной фосфатазы (ALP), общего холестерина (T-Chol), триглицеридов (TAG) и холестерина липопротеинов низкой плотности (LDL-C). Кроме того, между группами 7 и 5 наблюдалось существенное ($p < 0,05$) увеличение сывороточных уровней TP, Alb и ALT. Вследствие пагубных изменений в биохимических параметрах и во избежание отрицательных последствий для здоровья следует избегать длительного употребления конфет «Том-Том» совместно с напитком «La Casera».

1. Introduction

A soft drink is a brew that typically consists of carbonated water, caffeine, phosphoric acid, sweetener (fruit juice, high-fructose corn syrup, sugar, or sugar substitutes), and other chemicals in the form of flavourings, colorants, and preservatives [1]. Soft drinks include Coca Cola, Pepsi, Fanta, Sprite, La Casera, Orange Drink, Chivita Orange Juice etc. Globally, the ingestion of soft drinks has increased within the last two to three decades [2]. Their impact on health is unknown, however epidemiological research has linked them to obesity, osteoporosis, liver and renal disorders [3]. Carbonated drinks have intentional caffeine additions that cause addiction in users because they are absorbed more quickly than other drinks [4].

In Spain, La Casera is a well-known brand of soft drinks. In Nigeria, it's one of the most popular soft drinks. This sweet carbonated drink is called gaseosa in Spanish. It can be served as a regular soda [5].

Cadbury produces the calming oval black and white sweet called Tom-Tom, which has a strong menthol flavour. A lozenge is a little tablet that is usually flavoured and sweetened, and it is designed to dissolve gradually in the mouth. Tom-Tom is widely available in Nigeria and provides fresh breath and instantaneous sweet comfort. Menthol is a monocyclic terpene alcohol. It is widely used in both food and medication and is generally regarded as being extremely safe. There have been incidents of menthol overconsumption leading to poisoning [6].

Tom-Tom contains the monocyclic terpene alcohol menthol. In general, it is regarded as quite safe and is extensively used in food and medicine. It has been revealed that codeine addicts use La Casera and Tom-Tom to form "gigabyte" solution (La Casera drink mixed with Tom-Tom candy) [7]. Case studies of menthol toxicity from excessive intake are documented in literature. But no case of lethal intoxication has ever been reported. The results of this investigation will help in ascertaining and establishing the possible biochemical adverse effects associated with combining Tom-Tom with La Casera [6].

Drug abuse is a serious problem that have been reported among Nigerian youth in which La Casera mix with Tom-Tom is one of those drugs that is recently abused. Following the ban by the Federal Government of Nigeria on the import and sale of codeine syrup, users reportedly turned to beverages, mainly La Casera drinks to mix with Tom-Tom sweets to create a substance known as "gigabyte" as an alternative [8]. This mixture may have higher effect of intoxication than real hard drugs or alcohol, and could have effect on various biochemical parameters. However, no study has been reportedly done on the effect(s) of this mixture. This study looked into the biochemical alterations that occurred in rats treated with soft drinks and candies flavoured with menthol. Histological analysis and test on the extent of oxidative damage in the tissue were also performed [9].

Pure menthol consumption is risky, and excessive use of menthol lozenges puts users at risk for overdosing on the substance [10]. There have been reports of gastrointestinal, neurological, and cutaneous symptoms linked to long-term menthol consumption [11]. Excessive menthol consumption has also been linked to coma, convulsions, ataxia, agitation, and dizziness [12]. Codeine addicts now embark on the use of La Casera and Tom-Tom candy to form "gigabyte" (mixture made with La Casera drink and Tom-Tom candies). Moreover, authors in [13] noted that the amount of drugs an addict needs to feel fulfilled varies from 2 to 10 gigabytes, depending on the amount utilized.

The liver which is the primary site for the metabolism of drugs gets overwhelmed in the case of an overdose [14]. This can cause toxicity and oxidative stress [15]. An adverse drug effect refers to any injury occurring at the time a drug is used [16], whether or not it is identified as a cause of the injury [17]. An undesired or dangerous reaction that occurs after a drug or combination of drugs is administered under normal use circumstances and is thought to be related to the drug is known as an adverse drug reaction (ADR) [18]. Usually, an ADR calls for stopping the medication or lowering the dosage [19]. ADRs can happen after taking a medication for an extended period of time [20], after a single dose, or as a result of taking two or more medications together [21].

Moreover, oxidative stress induced liver dysfunctions demonstrated by considerable increase in alkaline phosphatase (ALP) [22], aspartate aminotransferase (AST) and alanine aminotransferase (ALT) activities [23]. Recent study on alternations in the oxidative stress levels of Wistar rats who received menthol candy and soft drink have been reported [10]. Also, observed alteration in triacylglycerol (TAG), low-density lipoprotein cholesterol (LDL-C), high-density lipoprotein cholesterol (HDL-C) and total cholesterol (TC) have been stated in oxidative stress induced liver damage [24].

This study was centred on the evaluation of serum transaminases and lipid profile of rats administered La Casera mixed with Tom-Tom candy.

2. Materials and methods

2.1. Reagents and chemicals

All the chemicals and reagents utilized in this investigation were of analytical quality. Tom-Tom (TT) candies and La Casera (LC) drinks were bought at the Abraka Main Market in Delta State, Nigeria.

2.2. Investigational processes

Seventy male albino rats (Wistar strain) with body weight ranging from 125 to 175 g were obtained and used for the entire duration of this study. They were fed with water and growers mash (laboratory diet) randomly. The rodents were randomly divided into 10 treatments or groups with each treatment containing seven rats as follows:

Group 1 is the control group, which was given a typical laboratory meal (growers mash) and unlimited water.

Group 2: 8 ml of LC per kilogram of body weight;

Group 3: 5 ml of LC per kilogram of body weight;

Group 4: 2.5 ml of LC per kilogram of body weight;

Group 5: 0.34 g of TT per kilogram of body weight;

Group 6: 0.22 g of TT per kilogram of body weight;

Group 7: 0.11 g of TT per kilogram of body weight;

Group 8: 0.34 g of TT in 8 ml of LC per kilogram of body weight;

Group 9: 0.22 g of TT in 5 ml of LC per kilogram of body weight;

Group 10: 0.11 g of TT in 2.5 ml of LC per kilogram of body weight;

La Casera and Tom-Tom were administered orally to rats in groups 2 through 10 for 42 days (either in combination or singly); when the study was completed (after 41 days), all the rats used were exterminated in a chloroform-filled airtight glass chamber; and after being surgically opened, blood samples and liver were obtained for use in biochemical analyses.

2.3. Biochemical analyses

2.3.1. Estimation of liver function markers

On a weekly basis, the glucose level was recorded, as well as the activities of alanine aminotransferase (ALT), aspartate aminotransferase (AST), alkaline phosphatase (ALP). Using commercially available diagnostic kits (Randox Laboratories Limited, England), colorimetric measurements (USB4000, Ocean Optics, Dunedin, FL, USA) of the total proteins and the albumin in the kidney and serum were taken in accordance with normal methods [25].

2.3.2. Blood glucose

The fasting blood glucose level in the experimental rats was examined periodically during the treatment via prick method using advanced Accu-Chek glucometer (Accu-Chek Inform II, 2003) (Roche Germany). Glucose test strip was inserted in the glucometer, and then a blood drop placed onto the green field of the test strip. The blood glucose result was read in mg/dL [26].

2.3.3. Determination of alkaline phosphatase

The approach by Okpoghono et al. [27] was used to measure the alkaline phosphatase activity. Alkaline phosphatase substrate of 0.05 ml was added to tubes with labels, and it was allowed to equilibrate at 37 °C for three minutes. The tubes containing the control and sample were introduced and mixed at intervals of 0.05 ml of standard. At 37 °C, this was incubated for exactly 10 minutes. Alkaline phosphatase colour developer was then added

in 2.5 ml increments and thoroughly mixed. At 580 nm, spectrophotometry (USB4000, Ocean Optics, Dunedin, FL, USA) was used to measure absorbance against a reagent blank comprising distilled water.

2.3.4. Determination of aspartate aminotransferase

AST activities were measured using the technique by Ozer et al. [28]. 250 µl of reagent 1 were dispensed into test tubes marked as sample and blank. 50 µl of samples were then added and combined. After incubating the tubes for 1 hour at 37 °C, 250 µl of the second reagent were added. Working NaOH reagent in amounts of 2.5 ml was added, and it was let to stand for 10 minutes. At 540 nm, the absorbance (USB4000, Ocean Optics, Dunedin, FL, USA) was measured against the reagent blank.

2.3.5. Determination of alanine aminotransferase

The approach by Hassan et al. [29] was used to determine the activity of alanine aminotransferases. 250 µl of reagent 1 were dispensed into the sample and blank test tubes. 50 µl of sample and 50 µl of distilled water were put to test tubes for the sample, which were then incubated at 37 °C for 60 minutes. Reagent 2 was added, stirred, and incubated for 20 minutes at 20 to 25 °C with 250 µl of the solution. 2.5 ml of the active NaOH reagent was added to each test tube, thoroughly mixed, and then left to stand for 10 minutes. Absorbance (USB4000, Ocean Optics, Dunedin, FL, USA) was measured at a wavelength of 540 nm against the reagent blank.

2.3.6. Determination of albumin

To estimate albumin level, the approach by Charmier et al. [30] was applied. In a test tube with the labels of blank, standard, and sample, 3 ml of bromocresol green (BCG) reagent were dispensed. Samples containing 10 µl were transferred to tubes and left for five minutes. The absorbance was measured at 580 nm by spectrophotometry (DT-Mini-2, Ocean Optics, Dunedin, FL, USA).

2.3.7. Estimation of total protein

Using the approach by Charmier et al. [30], the total protein was measured. 1 ml of protein reagent was poured into each of the sample, standard, and blank test tubes, followed by the addition of 20 µl of sample. After 30 minutes, the absorbance against the reagent blank was measured at 546 nm (DT-Mini-2, Ocean Optics, Dunedin, FL, USA).

2.3.8. Estimation of lipid profile

Commercial diagnostic kits were bought from Randox Laboratories Limited, England. Standard approach was used to determine the HDL cholesterol, total cholesterol and triacylglycerol levels. Low density lipoprotein (LDL)-cholesterol was estimated thus: $LDL - C (mg/dl) = (TC - HDL) - TAG/5$ [29].

2.3.9. Determination of total cholesterol

The method by Nagababu et al. [31] was taken for total cholesterol determination. Cholesterol reagent (1 ml) was taken in a labeled test tube, 10 µl of the sample was added into the tube swirled. The tubes that contained the specimen and the reagent were allowed to stand for 5 minutes. The colour of the solution changed to pinkish red after which the absorbance was measured at 530 nm (USB4000, Ocean Optics, Dunedin, FL, USA).

2.3.9. Determination of triacylglycerol

This assay was carried using the method by Nagababu et al. [31]. Triacylglycerol reagent (1 ml) was put in tubes and labelled after which the standard reagent and 10 µl of sample (distilled water) were put in their respective tubes and whisked. The specimen and reagent containing tubes were allowed to stand for 5 minutes at ambient temperature. Following blanking, the absorbance was measured at 540 nm (USB4000, Ocean Optics, Dunedin, FL, USA).

2.3.10. Determination of high-density lipoprotein cholesterol

The technique by Ozer et al. [28] was used to calculate HDL-C. To the test tube marked as "CHOLESTROGEN REAGENT," 1 ml was inserted. Thereafter the standard reagent and 25 µl of the sample (distilled water) were then put into their individual tubes. The contents of each tube were thoroughly mixed for five minutes. Values were recorded at 500 nm (USB4000, Ocean Optics, Dunedin, FL, USA).

2.4. Histopathology analysis

The liver histology was performed using the methodology by Perry et al. [32]. For 48 hours, the tissues were left to repair in 10% formyl saline. In a tissue cassette with prelabels, the tissues were sliced into 3 mm thick pieces. 70% alcohol was used to obtain dehydrated pieces that were passed through 90% alcohol and chloroform for different time lengths. Afterwards, they were moved into changes of molten paraffin wax for twenty minutes all in a temperature 57 °C oven. Successive 5 µm thick sections of

a hard block tissue were obtained and stained with eosin and haematoxylin stains. Following the staining, the tissue was passed through a blend of equivalent concentrations of alcohol and xylene. Clearance was done after which the tissue was dried in the oven coloured video digital camera-aided photomicrographs were taken. The video camera was placed on an Olympus light microscope (Olympus UK Limited, United Kingdom)

2.5. Statistical analysis

The data obtained were expressed as mean ±SD and analysis of the group mean and variance (ANOVA) was compared by least significant difference (LSD). The SPSS-PC programme package (version 22.0) will be used for statistical analysis.

2.6. Ethical approval

It was approved ethically to conduct the experiment. The protocol for managing lab humans/animals during the study was adhered to. Additionally, authors collaborated with the technicians in the lab and humans/animal house.

The protocol for managing laboratory animals during the study was adhered to. Ethical approval was obtained from the Faculty Research Ethics Committee, Faculty of Science, Delta State University of Science and Technology, Ozoro (Ethical approval number: FOS/DSUST/23/6543). The research was carried out according to the guidelines of the ethics committee and the protocol was approved by FOS/DSUST/23/6543.

3. Results

3.1. Blood glucose level of rats administered TT, LC, and TT mixed with LC

The blood glucose level results of rats administered TT, LC and TT mixed with LC for a period of six weeks are shown in Figure 1. In the first week, groups 2, 5, 6, and 7 showed no discernible changes in their glucose levels compared to the control, while groups 3, 4, 8, 9 and 10 showed a substantial increase ($p < 0.05$) in their blood glucose levels. Moreover, group 3 did not exhibit a significant difference from group 4, although group 2 did exhibit a considerable drop ($p < 0.05$) compared to group 4. Additionally, there was no discernible variation in group 10's blood glucose level when compared to groups 8 and 9. Furthermore, group 7 did not exhibit a statistically significant difference compared to groups 5 and 6. There was no significant difference between groups 2 and 5, while group 8's blood glucose level rose considerably ($p < 0.05$) in comparison to group 2. Groups 7, 8, 9, and 10 did not significantly differ in their blood glucose levels from the control on weeks 4 and 5, however groups 2, 3, 4, and 5 did significantly rise ($p < 0.05$) in comparison to the control. That being said, between groups 4 and 3, there was no obvious difference. Furthermore, no discernible variation was observed between groups 8 and 9 and group 10. On the other hand, group 7 showed a substantial rise ($p < 0.05$) in comparison to group 5. Additionally, group 2 showed a substantial decrease ($p < 0.05$) in comparison to groups 5 and 8. During week six, there was no significant difference observed between groups 6 and 7, while groups 2, 3, 4, 5, 8, 9 and 10 showed a significant ($p < 0.05$) increase in blood glucose compared to the control. Additionally, there was no discernible change in group 4's blood glucose levels when compared to groups 2 and 3. Furthermore, group 10 did not exhibit a statistically significant difference from groups 8 and 9. Conversely, group 5 exhibited a substantial rise ($p < 0.05$)

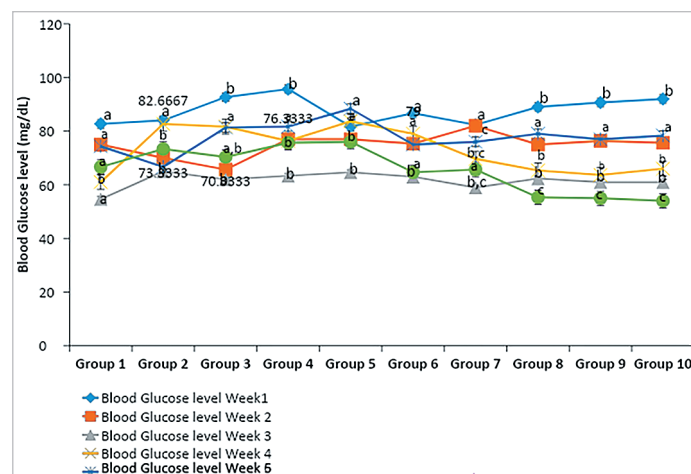


Figure 1. Blood glucose readings of rats that were given TT mix with LC

Mean values (n5) in the same line with different superscript letter differ significantly at $p < 0.05$.

Рисунок 1. Уровни глюкозы в крови у крыс, которым давали смесь ТТ и LC

in comparison to group 7, whereas group 6 showed no significant difference in comparison to group 7. Furthermore, no statistically significant difference was seen between group 2 and group 5, although a substantial rise ($p < 0.05$) was noted between group 2 and group 8.

3.2. *AST, ALT, ALP, albumin and total protein of rats given TT, LC and TT mixed with LC*

The effect of TT, LC and TT mixed with LC on liver function markers of rats is displayed in Table 1 and Table 2. There was a significant increase ($p < 0.05$) observed in serum AST, ALT, ALP activity and decrease in albumin and total protein of rat in groups 2, 3, 5, 6, 8, 9 and 10 compared to the control. Also, there was a significant decrease recorded in group 4 compared to groups 2 and 3. However, there was no significant difference observed in group 10 compared to groups 8 and 9. Furthermore, group 7 had an obvious decrease ($p < 0.05$) compared to groups 5 and 6. In addition, there was an important decrease in group 2 compared to group 8.

Table 1. Serum AST, ALT and ALP activities of rats administered TT, LC and TT mixed with LC

Таблица 1. Активность АСТ, АЛТ и ЩФ в сыворотке крови у крыс, которым давали TT, LC, а также смесь TT и LC

	Serum AST (U/L)	Serum ALT (U/L)	Serum ALP (U/L)
Group 1	151.40 ± 32.56 ^a	56.00 ± 13.78 ^a	120.80 ± 57.66 ^a
Group 2	180.60 ± 31.86 ^b	77.00 ± 22.69 ^b	153.60 ± 48.40 ^b
Group 3	175.40 ± 48.60 ^b	68.40 ± 21.46 ^c	140.20 ± 52.16 ^c
Group 4	150.60 ± 37.87 ^a	61.40 ± 23.94 ^d	120.40 ± 50.30 ^a
Group 5	170.80 ± 45.63 ^{b, c}	65.00 ± 8.66 ^{c, d}	135.20 ± 53.13 ^c
Group 6	176.00 ± 42.19 ^b	60.80 ± 15.73 ^d	130.60 ± 39.01 ^{c, d}
Group 7	149.00 ± 15.95 ^a	54.40 ± 11.86 ^a	110.60 ± 25.38 ^e
Group 8	202.60 ± 25.07 ^d	83.20 ± 20.26 ^b	165.40 ± 36.48 ^f
Group 9	205.80 ± 54.30 ^d	81.40 ± 31.26 ^b	166.00 ± 33.08 ^f
Group 10	202.80 ± 38.64 ^d	80.00 ± 21.94 ^b	164.40 ± 52.29 ^f

The values are expressed as mean ± SD. Mean values ($n = 5$) in the same column with changed letter differ at $p < 0.05$.

Table 2. Effect of TT, LC and TT mixed with LC on serum albumin and total protein level of rats

Таблица 2. Влияние TT, LC, а также смеси TT и LC на сывороточные уровни альбумина и общего белка у крыс

	Albumin (g/dL)	Total protein (g/dL)
Group 1	5.44 ± 0.05 ^a	8.22 ± 0.5 ^a
Group 2	3.82 ± 0.21 ^b	7.44 ± 0.70 ^a
Group 3	3.34 ± 0.25 ^b	7.46 ± 0.48 ^a
Group 4	5.40 ± 0.14 ^a	8.66 ± 1.04 ^a
Group 5	4.72 ± 1.69 ^{a, b}	6.92 ± 0.42 ^{a, b}
Group 6	4.62 ± 1.69 ^{a, b}	7.48 ± 0.33 ^a
Group 7	6.36 ± 0.18 ^c	8.10 ± 0.68 ^a
Group 8	2.78 ± 0.13 ^b	5.92 ± 1.40 ^b
Group 9	2.40 ± 0.15 ^b	5.54 ± 0.24 ^b
Group 10	2.70 ± 0.29 ^b	5.40 ± 0.55 ^b

The values are expressed as mean ± SD. Mean values ($n = 5$) in the same column with changed letter differ at $p < 0.05$.

3.3. *Lipid profile of rats that were given TT, LC and TT mixed with LC*

The blood lipid profile of rats given TT, LC, and TT combined with LC is displayed in Table 3. Rats in groups 2, 5, 6, 8, 9, and 10 had significantly higher serum levels of Total-Chol, TAG, and LDL-Chol ($p < 0.05$) when compared to the control. Additionally, group 4's serum Total-Chol, TAG, and LDL-Chol were significantly lower than those of groups 2 and 3. On the other hand, group 10's Total-Chol, TAG, and LDL-Chol did not significantly differ from groups 8 and 9. Moreover, compared to groups 5 and 6, group 7 experienced a substantial drop ($p < 0.05$). Furthermore, in group 2, serum LDL-Chol did not differ significantly from groups 5 and 8. Rats in groups 2, 3, 5, 6, 8, 9, and 10 had significantly lower serum HDL-Chol levels ($p < 0.05$) than the control group, whereas groups 4 and 7 did not significantly vary from the control group. Additionally, group 2's results were significantly lower than those of groups 4 and 3. However, when group 10 was compared to groups 8 and 9, no discernible differences were seen. Additionally, when compared to groups 5 and 6, group 7 showed a substantial increase ($p < 0.05$). Furthermore, group 2's serum HDL-Chol considerably decreased ($p < 0.05$) when compared to group 5, but group 2's serum HDL-Chol did not significantly differ from group 8's values.

Table 3. Changes in serum lipid profile of rats given TT, LC and TT mixed with LC

Таблица 3. Изменения в липидном профиле сыворотки крови у крыс, которым давали TT, LC, а также смесь TT и LC

	Total-Chol (mg/dL)	TAG (mg/dL)	HDL-Chol (mg/dL)	LDL-Chol (mg/dL)
Group 1	42.00 ± 14.38 ^a	60.60 ± 17.14 ^a	30.80 ± 1.64 ^a	13.60 ± 6.54 ^a
Group 2	55.20 ± 15.65 ^b	80.20 ± 11.60 ^b	16.40 ± 2.88 ^b	21.20 ± 10.23 ^b
Group 3	58.00 ± 14.73 ^b	56.00 ± 25.60 ^a	20.80 ± 2.77 ^b	18.40 ± 12.34 ^b
Group 4	40.00 ± 13.63 ^a	42.60 ± 8.14 ^d	31.80 ± 2.16 ^a	10.00 ± 5.04 ^a
Group 5	50.00 ± 15.09 ^{b, c}	70.00 ± 22.07 ^{a, e}	23.00 ± 2.23 ^{b, c}	18.20 ± 9.23 ^b
Group 6	47.00 ± 6.44 ^{b, c}	64.20 ± 11.90 ^{a, e}	26.60 ± 5.59 ^{b, c}	15.00 ± 3.80 ^{a, b}
Group 7	36.40 ± 9.60 ^d	55.60 ± 15.43 ^a	32.60 ± 3.04 ^a	11.60 ± 9.34 ^a
Group 8	60.40 ± 19.15 ^c	92.00 ± 11.33 ^f	15.40 ± 2.79 ^b	22.40 ± 16.92 ^b
Group 9	61.60 ± 6.14 ^c	91.60 ± 25.03 ^f	16.80 ± 5.93 ^b	20.60 ± 1.51 ^b
Group 10	61.20 ± 24.80 ^c	87.00 ± 24.70 ^f	15.60 ± 5.85 ^b	22.00 ± 17.27 ^b

The values are expressed as mean ± SD. Mean values ($n = 5$) in the same column with different letter differ at $p < 0.05$.

3.4. *Liver histology results of the rats that received TT, LC and TT mixed with LC*

The liver histology results of rats administered TT, LC and TT mixed with LC are illustrated in Figure 2 (group 1 to 10). The liver histology of Group 1 (control) had central vein (CV) and normal hepatic cell (HC). Group 2 had hepatic cell (HC) and inflammation (I) of portal vein (PV). Group 3 showed mild inflammation (I) of PV. Group 4 had no damage to hepatic cell. Groups 5 and 6 indicated congestion (C) of PV. Group 7 had normal HC and CV. Groups 8, 9 and 10 indicated severe inflammation (I) and necrosis (N).

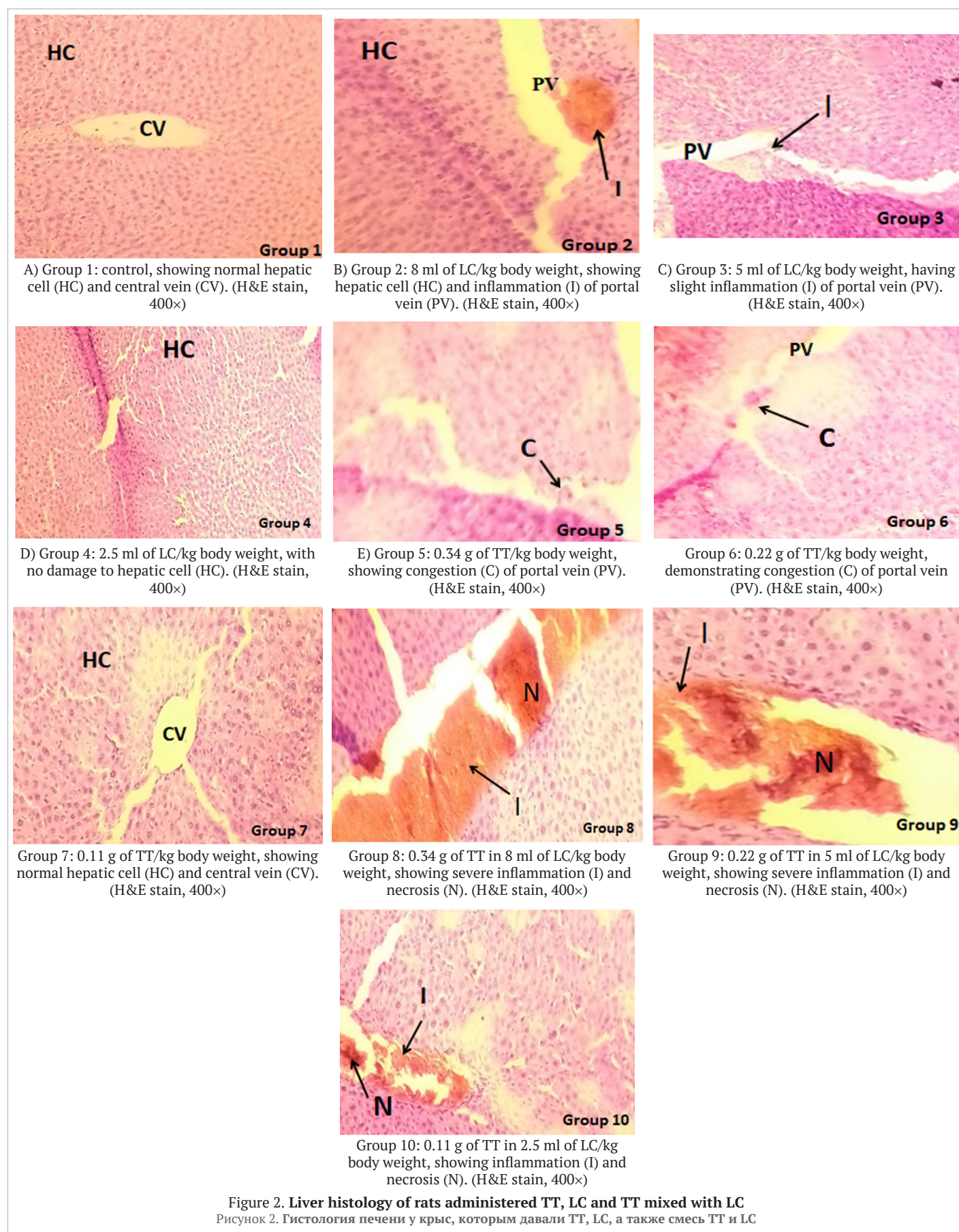
4. Discussion

Tom-Tom is an oval black and white sweet with a strong menthol flavour that is calming. There have been cases reported of menthol poisoning brought on by excessive use [6]. Nigerians are familiar with La Casera, a typical Spanish soft drink. It is suitable for serving as a typical soda [12]. Individual and societal chronic soft drink use is concerning rising [12]. The goal of the current study was to look at the biochemical characteristics of rats given LC, TT, and LC combined with TT. The blood glucose levels of the rats given TT mixed with LC was measured, and the results showed that, from the first week to the fifth week, no discernible disparity between the glucose levels of groups 6, 7, 8, 9, and 10 and the control was observed. On the other hand, the consumption of LC may have contributed to the significant ($p < 0.05$) rise in groups 2, 3, and 4 during week 4 as compared to the control. This aligns with the research conducted by Alsunni et al. [33], who suggested that soft drink caffeine content could be the cause of an increase in blood glucose levels. Adrenaline is released by caffeine, which raises blood sugar levels [34]. Research has also indicated that the use of certain soft drinks may cause an increase in blood glucose levels because of their high glycaemic index and other ingredients including caffeine, high fructose, aspartame, and caramel [35].

The rats that were given TT and LC in amounts of 0.11 g in 2.5 ml, 0.22 g in 5 ml, and 0.34 g in 8 ml per kg body weight on week 6 showed lower blood glucose levels than those on weeks 1, 2, 3, and 5, which may indicate that menthol's anti-hyperglycaemic action is attenuated. Research has shown menthol, a naturally occurring monoterpene, to be great at reducing high blood glucose by inducing the secretion of insulin and improving the activity of glucose metabolic enzymes in experimental animals [36]. Glucokinase is the enzyme that sensors glucose in pancreatic beta cells and liver cells. The enzyme also fundamentally determines flux via glycolysis in both cell types besides been critically implicated in the regulation of glucose. The high glucose level in rats observed in this study might be due to a deficiency of direct stimulation of glycolysis by insulin in tissues. It was reported that a deficiency is the cause of the decrease in the activity of glucokinase in rats' liver at high glucose levels [37].

Interestingly, menthol was seen to improve the secretion of insulin which consequently improved glucokinase activity. Increase in the activity of glucokinase leads to greater utilization of glucose which in turn leads to its decrease in the blood [38].

Rats given TT and LC in amounts of 0.34 g in 8 ml, 0.22 g in 5 ml, and 0.11 g in 2.5 ml per kg body weight showed a significant ($p < 0.05$) increase in serum AST, ALT, and ALP compared to the control group (Table 1). This increase is likely the result of liver damage caused by the high dose of TT mixed with LC.



The results are identical with those by Dubey et al. [39], who found that rats given soft drinks had higher serum levels of AST, ALT, and ALP than rats in the control group. According to Hasan et al. [40], biochemical indicators indicating liver injury include elevated serum levels of the activity of AST, ALT, and ALP. Rats' serum ALT levels increased, which

suggests that liver function may be compromised [41]. However, significant decrease was recorded in AST, ALT and ALP of rats given 2.5 ml of LC/kg (group 4) in comparison with 8 ml of LC/kg (group 2) and 5 ml of LC/kg (group 3). Interestingly, at low dose of 2.5 ml of LC/kg and 0.11 g of TT/kg, no significant difference was noted compared to the control.

This could be because excessive carbonated drink consumption can cause liver damage and raise liver enzyme activity, even at lower dosages when it may not be hazardous [41]. However, the rats that received TT and LC in amounts of 0.34 g in 8 ml, 0.22 g in 5 ml, and 0.11 g in 2.5 ml per kg body weight did not exhibit significantly different blood AST, ALT, or ALP activity. This may be the result of TT combined with LC having the same dose concentrations. Additionally, blood levels of AST, ALT, and ALP were significantly lower ($p < 0.05$) in rats given a low dose of 0.11 g of TT/kg than in rats given a high dose of 0.34 g and 0.22 g of TT/kg. Furthermore, in comparison to rats given 8 ml of LC/kg, rats given 0.34 g of TT and 0.34 g of TT in 8 ml of LC/kg showed a substantial increase in ALT and ALP, according to the study. The effect could be as a result of the menthol constituents Tom-Tom candy. Study have shown that intake of menthol at high dose could be toxic to the liver [42].

In this study, the liver histology of control (group 1), groups 4 and 7 demonstrated average hepatic cell and central vein; no damage was indicated (Figure 2A, Figure 2D, Figure 2G). On the other hand, groups 2, 3, and 5 displayed portal vein inflammation and congestion. Rats administered TT and LC in amounts of 0.34 g in 8 ml, 0.22 g in 5 ml, and 0.11 g in 2.5 ml per kg body weight similarly showed signs of severe inflammation and necrosis (groups 8, 9 and 10). The increased AST, ALT, and ALP levels in the livers of the rats in these groups may be supported by this damage.

When compared to the control group (Table 2), rats in groups 2, 3, 7, 8, 9 and 10 had significantly lower serum levels of albumin and total protein ($p < 0.05$). This could be the result of tissue damage caused by high doses of TT, LC, and TT mixed with LC. A steady increase in the consumption of soft drinks may be linked to a significant drop in albumin and total protein [43]. There has also been evidence of a link between albuminuria — a sign of early kidney damage — and sugar-sweetened soda drinks [44]. According to Elbendary et al. [45], a prolonged consumption of soft drinks has been linked to damage to the kidneys and liver, which is the primary source of albumin.

Prolonged hepatic cell death lowers serum levels of albumin and total protein and increases hepatic releases, which worsen hepatic dysfunction [46]. However, when comparing the rats administered 8 ml of LC/kg to the group given 0.34 g of TT/kg and 0.34 g of TT in 8 ml LC/kg body weight, respectively, no discernible differences were shown in the levels of albumin and total protein. When comparing a little dose of 2.5 ml of LC/kg body weight (group 4) to the high dose of 5 and 8 ml of LC/kg (groups 2 and 3), a substantial increase ($p < 0.05$) was seen in total protein and albumin. This may indicate that there may be no correlation between reduced use of carbonated drinks and protein degradation [47].

In contrast, rats fed 0.22 g of TT in 5 ml of LC and 0.11 g of TT in 2.5 ml of LC/kg body weight (groups 9 and 10) demonstrated no significant difference in total protein and albumin compared to 0.34 g of TT in 8 ml of LC/kg (group 8). Furthermore, serum albumin and total protein levels significantly increased ($p < 0.05$) in rats given a modest dose of 0.11 g of TT/kg body weight (group 7) in comparison to 0.22 and 0.34 g of TT/kg.

Low dose of TT intake may provide low menthol which might have stimulated protein synthesis. Paraskeuas et al. [48] reported that inclusion of menthol at the low rate of 100 to 150 mg/kg in feed improved the nutrient digestibility, thus enhancing the growth measures and protein level in broiler chickens. In this investigation, rats given LC in amounts of 8 and 5 ml/kg, TT in amounts of 0.34 g/kg, and TT mix with LC in amounts of 0.34 g in 8 ml, 22 g in 5 ml, and 0.11 g in 2.5 ml/kg demonstrated a considerable increase ($p < 0.05$) in serum Total-Chol, TAG, and LDL-Chol and a decrease in HDL-Chol when compared to the control group (Table 3). Intake of TT and LC at high dose may lead to alteration of lipids. Gugliucci et al. [49] stated that excess of carbonated drinks is considerably linked with the elevation of triglycerides, which may add to cardiovascular disease and is also a variable marker for diabetes mellitus. Increased levels of triglycerides in blood thus indicated to be predisposing for cardiovascular diseases [50]. Additionally, considerable decrease was seen in serum Total-Chol, TAG and LDL-Chol in the rats that were administered 2.5 ml of LC/kg in comparison to 8 ml and 5 ml of LC/kg. This should mean that intake of LC lower Total-Chol, TAG, LDL-Chol and increase HDL-Chol. Moreover, a considerable reduction ($p < 0.05$) was observed in serum LDL-Chol of the rats that took 2.5 of LC/kg (group 4) in comparison to those given 8 and 5 of LC/kg. Furthermore, little dose of TT of 0.11 g/kg considerably reduced serum LDL-Chol ($p < 0.05$) compared to elevated doses of 0.22 g and 0.34 g/kg. This clearly illustrates that low LC and TT doses may not have effect on the alteration of the lipids.

5. Conclusion

Conclusively, a continually consuming of La Casera, Tom-Tom or La Casera mixed with Tom-Tom triggered alterations in serum lipid profile and liver function markers. The liver histopathological examination of the rats that administered TT mix with LC, LC only and TT only at high dose had severe alterations in comparisons to that of rats given low dose. Taken together, these confirmed that TT and LC at high dose or TT mix with LC triggered biochemical alterations. It is therefore recommended that intake of TT mix with LC or constant consumption of TT and LC should be discouraged because of the noticeable side effects associated with their consumption, especially at over a long period of time.

REFERENCES

- Vilela, A., Cosme, F., Pinto, T. (2018). Emulsions, foams, and suspensions: The microscience of the beverage industry. *Beverages*, 4(2), 25. <https://doi.org/10.3390/beverages4020025>
- Izah, S., Inyang, I., Angaye, T., Okowa, I. (2016). A review of heavy metal concentration and potential health implications of beverages consumed in Nigeria. *Toxics*, 5(1), Article 1. <https://doi.org/10.3390/toxics5010001>
- Lee, C.-Y., Chuang, Y.-S., Lee, C.-H., Wu, M.-T. (2023). Linking metabolic syndrome with low bone mass through insights from BMI and health behaviors. *Scientific Reports*, 13(1), Article 14393. <https://doi.org/10.1038/s41598-023-41513-7>
- De Longis, E., Lerond, C., Costello, S. E., Hudry, J. (2022). The matrix matters: Beverage carbonation impacts the timing of caffeine effects on sustained attention. *Nutrients*, 14(11), Article 2305. <https://doi.org/10.3390/nu14112305>
- dePaula, A. J., Farah, A. (2019). Caffeine consumption through coffee: Content in the beverage, metabolism, health benefits and risks. *Beverages*, 5(2), Article 37. <https://doi.org/10.3390/beverages5020037>
- Jamshed, N., Kumar, A., Baitha, U., Aggarwal, P. (2016). A fatal case of menthol poisoning. *International Journal of Applied and Basic Medical Research*, 6(2), Article 137. <https://doi.org/10.4103/2229-516x.179015>
- Fan, M., Yuan, S., Li, L., Zheng, J., Zhao, D., Wang, C. et al (2023). Application of terpenoid compounds in food and pharmaceutical products. *Fermentation*, 9(2), Article 119. <https://doi.org/10.3390/fermentation9020119>
- Jatau, A. I., Sha'aban, A., Gulma, K. A., Shitu, Z., Khalid, G. M., Isa, A. et al. (2021). The burden of drug abuse in Nigeria: A scoping review of epidemiological studies and drug laws. *Public Health Reviews*, 42, Article 1603960. <https://doi.org/10.3389/phrs.2021.1603960>
- Ibtissem, B. A., Hajer, B. S., Ahmed, H., Awatef, E., Choumou, K., Ons, B. et al. (2017). Oxidative stress and histopathological changes induced by methylthioophanate, a systemic fungicide, in blood, liver and kidney of adult rats. *African Health Sciences*, 17(1), Article 154. <https://doi.org/10.4314/ahs.v17i1.20>
- Isoje, E. F., Okoro, I. O. (2022). Changes in oxidative stress parameters in wistar rats administered soft drink and menthol candy. *Journal of Applied Sciences and Environmental Management*, 25(12), 2047–2052. <https://doi.org/10.4314/jasem.v25i12.8>
- Edo, G. I., Onoharigho, F. O., Jikah, A. N., Agbo, J. J. (2024). The ameliorative effect of methanol extract of *Ricinodendron heudelotii* (Baill.) leaves on paracetamol-induced hepatotoxicity in Wistar rats. *Drug and Chemical Toxicology*, 48(1), 98–106. <https://doi.org/10.1080/01480545.2024.2362891>
- Baibars, M., Eng, S., Shaheen, K., Alraiyes, A. H., Alraiyes, M. C. (2012). Menthol toxicity: An unusual cause of coma. *Case Reports in Medicine*, 2012, 1–3. <https://doi.org/10.1155/2012/187039>
- Earp, B. D., Wudarczyk, O. A., Foddy, B., Savulescu, J. (2017). Addicted to love: What is love addiction and when should it be treated? *Philosophy, Psychiatry, and Psychology*, 24(1), 77–92. <https://doi.org/10.1353/ppp.2017.0011>
- Edo, G. I. (2022). Effects of paraquat dichloride on adult male wistar rat. an approach in the toxicity of body weights and hematological tissues. *Journal of Analytical and Pharmaceutical Research*, 11(1), 1–7. <https://doi.org/10.15406/japlr.2022.11.00394>
- Vaja, R., Rana, M. (2020). Drugs and the liver. *Anaesthesia and Intensive Care Medicine*, 21(10), 517–523. <https://doi.org/10.1016/j.mpaic.2020.07.001>
- Edo, G. I., Ugbune, U., Onoharigho, F. O., Ezekiel, G. O., Agbo, J. J. (2023). Antioxidant activities of *reissantia indica* willd. (mopane paddle-pod) and nephroprotective effect on paracetamol-induced nephrotoxicity in male wistar rats. *Nutrire*, 48, Article 26. <https://doi.org/10.1186/s41110-023-00214-x>
- Coleman, J. J., Pontefract, S. K. (2016). Adverse drug reactions. *Clinical Medicine*, 16(5), 481–485. <https://doi.org/10.7861/clinmedicine.16-5-481>
- Yang, S., Kar, S. (2023). Application of artificial intelligence and machine learning in early detection of adverse drug reactions (ADRs) and drug-induced toxicity. *Artificial Intelligence Chemistry*, 1(2), Article 100011. <https://doi.org/10.1016/j.aichem.2023.100011>
- Owhero, J. O., Edo, G. I., Oluwajuyitan, D. T., Faturoti, A. O., Martins, I. E., Akpogheli, P. O. et al. (2023). Quality evaluation of value-added nutritious biscuit with high antidiabetic properties from blends of wheat flour and oyster mushroom. *Food Chemistry Advances*, 3, Article 100375. <https://doi.org/10.1016/j.focha.2023.100375>
- Edo, G. I., Onoharigho, F. O. (2023). A comparative study of biological and chemical composition of African spinach (*Amaranthus cruentus*) extract: An approach in drug formulation, food and nutrition. *Advances in Traditional Medicine*, 24(2), 519–529. <https://doi.org/10.1007/s13596-023-00718-x>
- Nwosu, L. C., Edo, G. I., Özgör, E. (2022). The phytochemical, proximate, pharmacological, GC-MS analysis of *Cyperus esculentus* (Tiger nut): A fully validated approach in health, food and nutrition. *Food Bioscience*, 46, Article 101551. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2022.101551>

22. Edo, G. I., Jikah, A. N., Onoharigho, F. O., Akpogheli, P. O., Agbo, J. J., Ekoko-tu, H. A. et al. (2024). The ameliorative effects of Vernonia amygdalina extract on superoxide dismutase and glutathione S-transferase on alloxan induced diabetes on male Wistar rats. *Food Chemistry Advances*, 4, Article 100620. <https://doi.org/10.1016/j.focha.2024.100620>
23. Onyibe, P. N., Edo, G. I., Nwosu, L. C., Ozgor, E. (2021). Effects of vernonia amygdalina fractionate on glutathione reductase and glutathione-S-transferase on alloxan induced diabetes wistar rat. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 36, Article 102118. <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2021.102118>
24. Edo, G. I. (2022). Antibacterial, phytochemical and GC-MS analysis of Thevetia peruviana extracts: An approach in drug formulation. *Natural Resources for Human Health*, 2(4), 418–426. <https://doi.org/10.53365/nrfhh/146543>
25. Onanuga, I. O., Jegede, A. I., Offor, U., Ogedengbe, O. O., Naidu, E. C. S., Peter, A. I. et al. (2020). Hypoxis hemerocallidea alters metabolic parameters and hepatic histomorphology in streptozotocin-nicotinamide-induced diabetic male rats under antiretroviral therapy. *Archives of Medical Science*, 16(1), 212–224. <https://doi.org/10.5114/aoms.2018.75220>
26. Kerimi, A., Nyambe-Silavwe, H., Pyner, A., Oladele, E., Gauer, J. S., Stevens, Y. et al. (2019). Nutritional implications of olives and sugar: attenuation of postprandial glucose spikes in healthy volunteers by inhibition of sucrose hydrolysis and glucose transport by oleuropein. *European Journal of Nutrition*, 58(3), 1315–1330. <https://doi.org/10.1007/s00394-018-1662-9>
27. Okpoghono, J., Achuba, F. I., George, B. O. (2018). Protective effect of Monodora myristica extracts on crude petroleum oil-contaminated catfish (Clarias gariepinus) diet in rats. *International Journal of Veterinary Science and Medicine*, 6(1), 117–122. <https://doi.org/10.1016/j.ijvsm.2018.03.006>
28. Ozer, A., Tome, J. M., Friedman, R. C., Gheba, D., Schroth, G. P., Lis, J. T. (2015). Quantitative assessment of RNA-protein interactions with high-throughput sequencing–RNA affinity profiling. *Nature Protocols*, 10(8), 1212–1233. <https://doi.org/10.1038/nprot.2015.074>
29. Hassan, I. U., Ehsan, N., Ijaz, M. U., Afsar, T., Amor, H., Almajwal, A. et al. (2022). Iridoid glycoside Aucubin protects against nonylphenol-induced testicular damage in male rats via modulation of steroidogenic and apoptotic signaling. *Scientific Reports*, 12(1), Article 13783. <https://doi.org/10.1038/s41598-022-18148-1>
30. Charmier, L. M. J., McLoughlin, C., McCleary, B. V. (2021). Diastatic power and maltose value: A method for the measurement of amylolytic enzymes in malt. *Journal of the Institute of Brewing*, 127(4), 327–344. <https://doi.org/10.1002/jib.665>
31. Nagababu, E., Rifkind, J. M., Boindala, S., Nakka, L. (2010). Assessment of antioxidant activity of eugenol in Vitro and in Vivo. Chapter in a book: Free Radicals and Antioxidant Protocols. Methods in Molecular Biology. Humana Press, 2010. https://doi.org/10.1007/978-1-60327-029-8_10
32. Perry, C., Chung, J.-Y., Ylaya, K., Choi, C. H., Simpson, A., Matsumoto, K. T. et al. (2016). A buffered alcohol-based fixative for histomorphologic and molecular applications. *Journal of Histochemistry and Cytochemistry*, 64(7), 425–440. <https://doi.org/10.1369/0022155416649579>
33. Alsunni, A.A. (2015). Energy drink consumption: Beneficial and adverse health effects. *International Journal of Health Sciences*, 9(4), 468–474.
34. Battaram, D. S., Graham, T. E., Richter, E. A., Dela, F. (2005). The effect of caffeine on glucose kinetics in humans — influence of adrenaline. *The Journal of Physiology*, 569(1), 347–355. <https://doi.org/10.1113/jphysiol.2005.097444>
35. Malik, V. S., Popkin, B. M., Bray, G. A., Després, J.-P., Hu, F. B. (2010). Sugar-sweetened beverages, obesity, type 2 diabetes mellitus, and cardiovascular disease risk. *Circulation*, 121(11), 1356–1364. <https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.109.876185>
36. Muruganathan, U., Srinivasan, S., Vinothkumar, V. (2017). Antidiabeticogenic efficiency of menthol, improves glucose homeostasis and attenuates pancreatic β -cell apoptosis in streptozotocin–nicotinamide induced experimental rats through ameliorating glucose metabolic enzymes. *Biomedicine and Pharmacotherapy*, 92, 229–239. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2017.05.068>
37. Haeusler, R. A., Camastra, S., Astiarraga, B., Nannipieri, M., Anselmino, M., Ferrannini, E. (2015). Decreased expression of hepatic glucokinase in type 2 diabetes. *Molecular Metabolism*, 4(3), 222–226. <https://doi.org/10.1016/j.molmet.2014.12.007>
38. Whitticar, N. B., Nunemaker, C. S. (2020). Reducing glucokinase activity to enhance insulin secretion: A counterintuitive theory to preserve cellular function and glucose homeostasis. *Frontiers in Endocrinology*, 11, Article 378. <https://doi.org/10.3389/fendo.2020.00378>
39. Dubey, S., Yadav, C., Bajpeyee, A., Singh, M. P. (2020). Effect of Pleurotus fossulatus aqueous extract on biochemical properties of liver and kidney in streptozotocin-induced diabetic rat. *Diabetes, Metabolic Syndrome and Obesity: Targets and Therapy*, 13, 3035–3046. <https://doi.org/10.2147/DMSO.S265798>
40. Hasan, K. Md. M., Tamanna, N., Haque, Md. A. (2018). Biochemical and histopathological profiling of Wistar rat treated with Brassica napus as a supplementary feed. *Food Science and Human Wellness*, 7(1), 77–82. <https://doi.org/10.1016/j.fshw.2017.12.002>
41. Díaz-Juárez, J. A., Hernández-Muñoz, R. (2017). Rat liver enzyme release depends on blood flow-bearing physical forces acting in endothelium glycocalyx rather than on liver damage. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2017(1), Article 1360565. <https://doi.org/10.1155/2017/1360565>
42. Zhao, Y., Pan, H., Liu, W., Liu, E., Pang, Y., Gao, H. et al. (2023). Menthol: An underestimated anticancer agent. *Frontiers in Pharmacology*, 14, Article 1148790. <https://doi.org/10.3389/fphar.2023.1148790>
43. Belinskai, D. A., Voronina, P. A., Shmurak, V. I., Jenkins, R. O., Goncharov, N. V. (2021). Serum albumin in health and disease: Esterase, antioxidant, transporting and signaling properties. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(19), Article 10318. <https://doi.org/10.3390/ijms221910318>
44. Bombard, A. S., Derebail, V. K., Shoham, D. A., Anderson, C. A., Steffen, L. M., Rosamond, W. D. et al. (2010). Sugar-sweetened soda consumption, hyperuricemia, and kidney disease. *Kidney International*, 77(7), 609–616. <https://doi.org/10.1038/ki.2009.500>
45. Elbendary, E. Y., Mahmoud, M. H., Salem, S. F., Farah, A. M. (2023). The Effects of energy drink consumption on kidney and liver function: A comparative study. *Journal of Biosciences and Medicines*, 11(03), 171–181. <https://doi.org/10.4236/jbm.2023.110317>
46. Wen, J., Chen, X., Wei, S., Ma, X., Zhao, Y. (2022). Research progress and treatment status of liver cirrhosis with hypoproteinemia. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2022, 1–8. <https://doi.org/10.1155/2022/2245491>
47. Chen, L., Liu, R., Zhao, Y., Shi, Z. (2020). High consumption of soft drinks is associated with an increased risk of fracture: A 7-year follow-up study. *Nutrients*, 12(2), Article 530. <https://doi.org/10.3390/nu12020530>
48. Paraskeuas, V., Fegeros, K., Palamidi, I., Hunger, C., Mountzouris, K. C. (2017). Growth performance, nutrient digestibility, antioxidant capacity, blood biochemical biomarkers and cytokines expression in broiler chickens fed different phytochemical levels. *Animal Nutrition*, 3(2), 114–120. <https://doi.org/10.1016/j.aninu.2017.01.005>
49. Gugliucci, A. (2023). Sugar and dyslipidemia: A double-hit, perfect storm. *Journal of Clinical Medicine*, 12(17), Article 5660. <https://doi.org/10.3390/jcm12175660>
50. Singh, A., Singh, R. (2016). Triglyceride and cardiovascular risk: A critical appraisal. *Indian Journal of Endocrinology and Metabolism*, 20(4), Article 418. <https://doi.org/10.4103/2230-8210.183460>

AUTHOR INFORMATION	СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ
Affiliation	Принадлежность к организации
Endurance F. Isoje , PhD, Lecturer, Department of Biochemistry, Faculty of Science, Delta State University of Science and Technology P. M. B. 05, Ozoro-Kwale Road, Ozoro, Delta State, Nigeria Тел.: +234–803–950–73–71 E-mail: mefegor@gmail.com ORCID: https://orcid.org/0000-0002-9489-8725	Исоджи Э. Ф. — PhD, преподаватель, кафедра биохимии, факультет естественных наук, Университет науки и технологий штата Дельта Р. М. В. 05, дорога Озоро-Квале, Озоро, штат Дельта, Нигерия Тел.: +234–803–950–73–71 E-mail: mefegor@gmail.com ORCID: https://orcid.org/0000-0002-9489-8725
Israel O. Okoro , PhD, Senior Lecturer, Department of Biochemistry, Faculty of Science, Delta State University, Abraka, Delta State, Nigeria P.M.B. 1, Abraka, Delta State, Nigeria Тел.: +234–705–756–96–13 Email: iookoro@delsu.edu.ng ORCID: https://orcid.org/0000-0001-6734-2679	Окоро И. О. — PhD, старший преподаватель, кафедра биохимии, факультет естественных наук, Университет штата Дельта Р.М.В. 1, Нигерия, штат Дельта, Абрака, Тел.: +234–705–756–96–13 Email: iookoro@delsu.edu.ng ORCID: https://orcid.org/0000-0001-6734-2679
Ali B. M. Ali , Doctor of Engineering, Vice Dean, Department of Air Conditioning Engineering, Faculty of Engineering, Warith Al-Anbiyaa University 56001, Karbala, Iraq Тел.: +964–9909–545–91–00 Email: dr.alibasem110@gmail.com ORCID: https://orcid.org/0000-0002-6802-9315	Али Б. М. Али — PhD, заместитель декана, Кафедра систем кондиционирования воздуха, инженерный факультет, Университет Варит Аль-Анбия 56001, Кербела, Ирак Тел.: +964–9909–545–91–00 Email: dr.alibasem110@gmail.com ORCID: https://orcid.org/0000-0002-6802-9315
Great I. Edo , PhD, Lecturer, Department of Chemistry, Faculty of Science, Delta State University of Science and Technology P. M. B. 05, Ozoro-Kwale Road, Ozoro, Delta State, Nigeria Тел.: +234–816–024–15–09 E-mail: greatiruo@gmail.com ORCID: https://orcid.org/0000-0002-2048-532X * corresponding author	Эдо Г. И. — PhD, преподаватель, кафедра химии, факультет естественных наук, Университет науки и технологий штата Дельта Р. М. В. 05, дорога Озоро-Квале, Озоро, штат Дельта, Нигерия Тел.: +234–816–024–15–09 E-mail: greatiruo@gmail.com ORCID: https://orcid.org/0000-0002-2048-532X * автор для контактов

AUTHOR INFORMATION		СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ	
Affiliation		Принадлежность к организации	
Emad Yousif , PhD, Professor, Department of Chemistry, College of Sciences, Al-Nahrain University Al Jadriyah Bridge, 64074, Baghdad, Iraq Tel.: +964-770-583-93-00 E-mail: emad_yousif@hotmail.com ORCID: https://orcid.org/0000-0003-1458-4724		Юсиф Э. — PhD, профессор, Химический факультет, Колледж естественных наук Университет Аль-Нахраин Мост Аль-Джадрия, 64074, Багдад, Ирак Тел.: +964-770-583-93-00 E-mail: emad_yousif@hotmail.com ORCID: https://orcid.org/0000-0003-1458-4724	
Joel Okpoghono , PhD, Lecturer, Department of Biochemistry, Faculty of Science, Delta State University of Science and Technology P. M. B. 05, Ozoro-Kwale Road, Ozoro, Delta State, Nigeria Tel.: +234-806-461-86-05 E-mail: okpoghonoj@dsust.edu.ng ORCID: https://orcid.org/0000-0002-5886-1765		Окпогхон Дж. — PhD, преподаватель, кафедра биохимии, факультет естественных наук, Университет науки и технологий штата Дельта P. M. B. 05, дорога Озоро-Квале, Озоро, штат Дельта, Нигерия Тел.: +234-806-461-86-0 E-mail: okpoghonoj@dsust.edu.ng ORCID: https://orcid.org/0000-0002-5886-1765	
Edith O. Okoro , Lecturer, Department of Medical Laboratory Science, Faculty of Science, Delta State University, Abraka, Delta State, Nigeria P.M.B. 1, Abraka, Delta State, Nigeria Tel.: +234-806-737-60-04 Email: eookoro@delsu.edu.ng ORCID: https://orcid.org/0000-0003-0539-1840		Окоро Э. О. — преподаватель, кафедра медицинских лабораторных наук, факультет естественных наук, Университет штата Дельта P.M.B. 1, Абрака, штат Дельта, Нигерия Тел.: +234-806-737-60-04 Email: eookoro@delsu.edu.ng ORCID: https://orcid.org/0000-0003-0539-1840	
Solomon U. Okom , Assistant Lecturer, Department of Biochemistry, Faculty of Science, Delta State University of Science and Technology P. M. B. 05, Ozoro-Kwale Road, Ozoro, Delta State, Nigeria Tel.: +234-907-912 84-50 E-mail: okomsu@dsust.edu.ng ORCID: https://orcid.org/0000-0002-7275-9492		Оком С. У. — младший преподаватель, кафедра биохимии, факультет естественных наук, факультет естественных наук, Университет науки и технологий штата Дельта P. M. B. 05, дорога Озоро-Квале, Озоро, штат Дельта, Нигерия Тел.: +234-907-912 84-50 E-mail: okomsu@dsust.edu.ng ORCID: https://orcid.org/0000-0002-7275-9492	
Arthur E. A. Essaghah , PhD, Professor, Department of Urban and Regional Planning, Faculty of Environmental Sciences, Delta State University of Science and Technology P. M. B. 05, Ozoro-Kwale Road, Ozoro, Delta State, Nigeria Tel.: +234-902-741-52-25 E-mail: arthuresa2006@gmail.com ORCID: https://orcid.org/0000-0001-7040-2900		Эссаргах А. Э. А. — PhD, профессор, кафедра городского и регионального планирования, факультет экологических наук, Университет науки и технологий штата Дельта P. M. B. 05, дорога Озоро-Квале, Озоро, штат Дельта, Нигерия Тел.: +234-902-741-52-25 E-mail: arthuresa2006@gmail.com ORCID: https://orcid.org/0000-0001-7040-2900	
Huzaifa Umar , PhD, Senior Scientist, Operational Research Centre in Healthcare, Near East University. Near East Boulevard, 99138, Nicosia, Cyprus Tel.: +357-9054-2888-84-19 E-mail: huzaifa.umar@neu.edu.tr ORCID: https://orcid.org/0000-0003-2508-9710		Умар Х. — PhD, старший научный сотрудник, Центр оперативных исследований в области здравоохранения, Ближневосточный университет Ближневосточный бульвар, 99138, Никозия, Кипр Тел.: +357-9054-2888-84-19 E-mail: huzaifa.umar@neu.edu.tr ORCID: https://orcid.org/0000-0003-2508-9710	
Joseph O. Owheru , PhD, Lecturer, Faculty of Science, Department of Food Science and Technology, Delta State University of Science and Technology P. M. B. 05, Ozoro-Kwale Road, Ozoro, Delta State, Nigeria. Tel.: +234-806-524-07-37 E-mail: owheruojoseph@yahoo.com ORCID: https://orcid.org/0000-0002-1588-8175		Оверуо Дж. О. — PhD, лектор, Кафедра естественных наук, факультет пищевой науки и технологии, Государственный университет науки и технологии Дельта P. M. B. 05, дорога Озоро-Квале, Озоро, штат Дельта, Нигерия Тел.: +234-806-524-07-37 E-mail: owheruojoseph@yahoo.com ORCID: https://orcid.org/0000-0002-1588-8175	
Patrick O. Akpogheli , PhD, Lecturer, Faculty of Science, Department of Food Science and Technology, Delta State University of Science and Technology. P. M. B. 05, Ozoro-Kwale Road, Ozoro, Delta State, Nigeria Tel.: +234-706-466-57-00 E-mail: patrickakpogheli@gmail.com ORCID: https://orcid.org/0000-0001-5476-2447		Акпогели П. О. — PhD, лектор, Кафедра естественных наук, факультет пищевой науки и технологии, Государственный университет науки и технологии Дельта P. M. B. 05, дорога Озоро-Квале, Озоро, штат Дельта, Нигерия Тел.: +234-706-466-57-00 E-mail: patrickakpogheli@gmail.com ORCID: https://orcid.org/0000-0001-5476-2447	
Dina S. Ahmed , PhD, Lecturer, Department of Chemical Industries, Institute of Technology-Baghdad, Middle Technical University 10074, Baghdad, Iraq Tel.: +964-770-613-17-92 E-mail: dina_saadi@mtu.edu.iq ORCID: https://orcid.org/0000-0003-2205-4061		Ахмед Д. С. — PhD, лектор, Факультет химической промышленности, Технологический институт Багдада, Средний технический университет 10074, Багдад, Ирак Тел.: +964-770-613-17-92 E-mail: dina_saadi@mtu.edu.iq ORCID: https://orcid.org/0000-0003-2205-4061	
Contribution		Критерии авторства	
Authors are 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.	
Conflict of interest		Конфликт интересов	
The authors declare no conflict of interest.		Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.	

DOI: <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2025-8-1-114-123>

Поступила 18.11.2024

Поступила после рецензирования 21.03.2025

Принята в печать 24.03.2025

© Дыдыкин А. С., Василевская Е. Р., Асланова М. А., Деревицкая О. К.,
Полищук Е. К., Купаева Н. В., Молдованов Г. Г., 2025



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

Научная статья

Open access

РАЗРАБОТКА БАД С НАНОЧАСТИЦАМИ ОКСИДА ЖЕЛЕЗА И ИЗУЧЕНИЕ ЕЕ ХРОНИЧЕСКОЙ ТОКСИЧНОСТИ И БИОЛОГИЧЕСКИХ ЭФФЕКТОВ

Дыдыкин А. С., Василевская Е. Р., Асланова М. А.*, Деревицкая О. К.,
Полищук Е. К., Купаева Н. В., Молдованов Г. Г.

Федеральный научный центр пищевых систем им. В. М. Горбатова, Москва, Россия

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: АННОТАЦИЯ

анемия, оксиды
железа, наножелезо,
биодоступность,
лабораторные
животные,
антиоксидантная
емкость

Анемия представляет собой глобальную проблему общественного здравоохранения, вызванную в основном дефицитом железа. Сложность обогащения рациона питания железом обусловлена окислительными свойствами железа, которые приводят к нежелательным сенсорным изменениям и к снижению качества и срока годности продуктов питания. Работа посвящена выбору биодоступных форм железа, которые при добавлении в пищу в соответствующем количестве не отторгаются организмом. Целью работы являлось изучение при помощи опытов на лабораторных крысах хронической токсичности и эффективности разработанной БАД «ПолиФерВит» в сравнении с коммерческими препаратами оксидов железа E172 ($\text{Fe}_2\text{O}_3 + \text{FeO}$) и сернокислого железа ($\text{FeSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$). Объектом исследования являлись: железо (II) сернокислое 7-водное ($\text{FeSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$); смесь оксидов железа E172 ($\text{Fe}_2\text{O}_3 + \text{FeO}$); БАД «ПолиФерВит» для применения в качестве источника железа (FeO , Fe_2O_3 , Fe_3O_4), витамина С и дигидрохверцетина. В процессе работы разработана биологически активная добавка к пище (БАД) «ПолиФерВит», содержание железа в добавке составляет 136% от суточной потребности. Сравнение биологической активности и хронической токсичности БАД «ПолиФерВит» и коммерческих препаратов железа показало, что все исследуемые объекты при ежедневном введении лабораторным животным в течение 32 суток не оказывали влияния на массу тела животных и на их физиологическое состояние, а также не вызвали изменений основных показателей общего анализа крови, в частности, в лейкоцитарной формуле. Выявленная динамика к увеличению содержания сывороточного железа при употреблении смеси оксидов железа (до 17%) и БАД «ПолиФерВит» (до 22%) свидетельствует о сходной биодоступности, причем биодоступность БАД «ПолиФерВит» более высокая, что, вероятно, связано с наноразмером частиц железа и с комбинированным составом добавки. Важным преимуществом БАД «ПолиФерВит» является менее выраженное негативное влияние на антиоксидантную систему, что выражалось в увеличении показателя супероксиддисмутазы до 44%.

Received 18.11.2024

Accepted in revised 21.03.2025

Accepted for publication 24.03.2025

© Didikin A. S., Vasilevskaya E. R., Aslanova M. A., Derevitskaya O. K.,
Polishchuk E. K., Kupaeva N. V., Moldovanov G. G., 2025

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

Original scientific article

Open access

DEVELOPMENT OF A DIETARY SUPPLEMENT WITH IRON OXIDE NANOPARTICLES AND STUDY OF ITS CHRONIC TOXICITY AND BIOLOGICAL EFFECTS

Andrei S. Dydykin, Ekaterina R. Vasilevskaya, Marietta A. Aslanova*, Olga K. Derevitskaya, Ekaterina
K. Polishchuk, Nadezhda V. Kupaeva, Gennadiy G. Moldovanov

V. M. Gorbатов Federal Research Center for Food Systems, Moscow, Russia

KEY WORDS:

anemia, iron
oxides, nano iron,
bioavailability,
laboratory animals,
antioxidant capacity

ABSTRACT

Anemia is a global public health problem, the main cause of which is iron deficiency in the body. The difficulty of enriching the diet with iron is explained by the oxidative nature of iron, which leads to undesirable sensory changes and a decrease in the quality and shelf life of food. The work is devoted to the selection of bioavailable forms of iron, which, when added to food in an appropriate amount, are not rejected by the body. The aim of the work was to study in experiments on laboratory rats the chronic toxicity and effectiveness of the developed dietary supplement "PoliFerVit" in comparison with commercial preparations of iron oxides E172 ($\text{Fe}_2\text{O}_3 + \text{FeO}$) and iron sulfate ($\text{FeSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$). The objects of the study were iron (II) sulfate heptahydrate ($\text{FeSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$), a mixture of iron oxides E172 ($\text{Fe}_2\text{O}_3 + \text{FeO}$), dietary supplement "PoliFerVit" for use as a source of iron (FeO , Fe_2O_3 , Fe_3O_4), vitamin C, and dihydroquercetin. In the process of work, a biologically active food additive (dietary supplement) "PoliFerVit" was developed, the iron content in the additive is 136% of the daily requirement. A comparison of the biological activity and chronic toxicity of the dietary supplement "PoliFerVit" and commercial iron preparations showed that all studied objects, when administered daily to laboratory animals for 32 days, did not affect the body weight of animals and their physiological state, and also did not cause changes in the main indicators of the general blood test, in particular, in the leukocyte formula. The revealed dynamics towards an increase in serum iron content when using a mixture of iron oxides (up to 17%) and dietary supplement "PoliFerVit" (up to 22%) indicates similar bioavailability, and the bioavailability of dietary supplement "PoliFerVit" is higher, which is probably due to the nanoscale size of iron particles and the combined composition of the additive. An important advantage of the dietary supplement "PoliFerVit" is a less pronounced negative effect on the antioxidant system, which was expressed in an increase in the superoxide dismutase index to 44%.

ДЛЯ ЦИТИРОВАНИЯ: Дыдыкин, А. С., Василевская, Е. Р., Асланова, М. А.,
Деревицкая, О. К., Полищук, Е. К., Купаева, Н. В. и др. (2025). Разработка
БАД с наночастицами оксида железа и изучение ее хронической токсично-
сти и биологических эффектов. *Пищевые системы*, 8(1), 114–123. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2025-8-1-114-123>

FOR CITATION: Didikin, A.S., Vasilevskaya, E. R., Aslanova, M.A., Derevits-
kaya, O.K., Polishchuk, E. K., Kupaeva, N.V. et al. (2025). Development of a di-
etary supplement with iron oxide nanoparticles and study of its chronic toxicity
and biological effects. *Food Systems*, 8(1), 114–123. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2025-8-1-114-123>

1. Введение

Анемия представляет собой проблему мирового общественно-го здравоохранения, от которой страдают почти 1,6 миллиарда человек [1]. В 2019 году глобальная распространенность анемии составила 36,5% среди беременных женщин, 29,6% среди женщин репродуктивного возраста и 39,8% среди детей в возрасте 6–59 месяцев [2]. На протяжении десятилетий анемия считается проблемой во многих странах, несмотря на экономическое развитие и улучшение качества медицинской помощи населению. Согласно анализу 16 основных фармацевтических рынков, проведенному компанией Global Data, распространенность анемии в Индии достигает 39,86% и является самой высокой в мире [3]. В марте 2018 года правительство Индии запустило проект Anemia Mukh Bharat Abhiyan. Основная задача проекта — снизить распространенность анемии за пять лет на три процентных пункта. Целевые группы проекта включали детей, подростков и женщин репродуктивного возраста (15–49 лет).

В России, согласно данным Росстата за 2019 г., анемия выявлена у 1617,7 тысяч жителей. Наиболее распространенной является железодефицитная анемия (ЖДА). Согласно опубликованным данным, в России ее распространенность составляет 75% среди всех анемий, что вызвано рядом факторов, среди которых эксперты выделяют прежде всего недостаточное потребление железа с пищевыми источниками и отсутствие достаточной осведомленности населения. Также одной из причин считают высокую приверженность женщин фертильного возраста, входящих в группу риска, редуцированным диетам для контроля массы тела. Однако получить объективные статистические данные затруднительно, и значительная доля населения, включая группы риска, остается не охваченной медицинским наблюдением. В результате приведенные цифры не полностью отражают реальную картину [4].

Основной причиной анемии является дефицит железа в организме. Анемия может возникнуть, если количество эритроцитов или их способность переносить кислород недостаточны для удовлетворения физиологических потребностей организма. Заболевание у женщин зачастую развивается в период беременности, в остальных случаях его тяжесть зависит от пола, возраста, вредных привычек.

Значительную часть железа в организме составляет клеточное железо, входящее в состав гемоглобина, миоглобина, ферментов, например, цитохромов, каталаз, пероксидазы и негемовых ферментов (например, НАДН-дегидрогеназы), металлопротеидов (например, аконитазы). Свободное железо плазмы и железосвязывающие сывороточные белки (трансферрин, лактоферрин) относят к внеклеточному пулу, обеспечивающему транспорт железа. В организме внеклеточное железо преимущественно находится в печени, селезенке и мышцах в виде белковых соединений ферритина и гемосидерина и при недостаточности клеточного железа включается в обмен.

Различают гемовое (содержащее протопорфирин) и негемовое железо, их источником в организме является в основном пищевое железо. Обе формы усваиваются на уровне эпителиоцитов двенадцатиперстной кишки и проксимального отдела тощей. В желудке возможна абсорбция только негемового железа, на долю которого приходится не более 20%. На биодоступность негемового железа влияет ряд пищевых факторов. Органические кислоты помогают сохранить его в растворимой форме и улучшают абсорбцию. Вещества растительного происхождения, такие как фитаты, полифенолы, дубильные вещества могут связывать железо и препятствовать его усвоению. Негемовое железо, получаемое из пищи, первоначально образует легкорастворимые соединения с компонентами пищи и желудочного сока, что благоприятствует его усвоению. Гемовое железо в эпителиоцитах распадается на ионизированное железо, окись углерода и билирубин, причем усвоение его не связано с кислотнопептической активностью желудочного сока [5].

Обогащение рациона питания железом — сложная задача. Высокая реакционная способность и окислительные свойства железа, зависящие от температуры и от условий окружающей среды, вызывают нежелательные сенсорные изменения, а также снижение качества и срока годности продуктов [6]. Поэтому необходимо выбирать форму железа с достаточной биодоступностью, которая при добавлении в пищу в соответствующем количестве не отторгается в результате неприемлемых сенсорных модификаций или антагонистической желудочно-кишечной реакции. Тем не менее, как и в случае любого другого обогащения микроэлементами, эффективность стратегии обогащения железом зависит от трех жизненно важных факторов — от степени дефицита питательных веществ, от выбора пищевого носителя и от соединения железа, которое будет выбрано в качестве

обогапителя. Кроме того, от продуктов, присутствующих в рационе, зависит усвояемость железа в организме. Хотя существуют соединения железа, подходящие для обогащения, основная проблема заключается в поиске соединения с хорошей биодоступностью, растворимостью и с минимальным влиянием на органолептические свойства продукта [7].

Для обогащения пищевых продуктов железом используются различные его соединения. По растворимости соли железа подразделяются на три типа: хорошо растворимые в воде; плохо растворимые в воде, но растворимые в разбавленной кислоте; нерастворимые в воде, но плохо растворимые в кислоте. Как правило, соединения железа с высокой растворимостью в воде более биодоступны, за исключением хлорида железа [6,8]. Также многие продукты содержат мощные ингибиторы всасывания железа [9]. Вместе с тем было высказано предположение, что пребиотические волокна усиливают абсорбцию железа [10,11], хотя точный механизм увеличения абсорбции железа пребиотиками до сих пор неизвестен. Возможная повышенная абсорбция может быть связана с осмотически активными сахарами, которые образуются в процессе ферментации при приеме пребиотиков. Эти сахара увеличивают пассивное усвоение металлов, таких как железо, и образуют слабые органические кислоты, улучшающие их усвоение. Также была выдвинута гипотеза, что короткоцепочечные жирные кислоты (КЦЖК), которые ферментируются в толстой кишке кишечной микробиотой, могут вызывать повышенную пролиферацию эпителиальных клеток, что увеличивает площадь поверхности для абсорбции, тем самым повышая абсорбцию железа.

В России для обогащения специализированной продукции законодательством разрешено использование следующих соединений железа: железа (II) глюконат; железа (II) сульфат; железа (II) лактат; железа (II) фумарат; железа (III) дифосфат (пирофосфат); железа (II) цитрат; железо (III) аммонийно-цитратное; железа (II) бисглицинат. Чаще всего для обогащения продуктов используется сульфат железа, который экономически выгоден и характеризуется хорошей растворимостью в воде и желудочном соке [12], усвояемостью, однако подвержен окислению и оказывает неблагоприятное влияние на органолептические показатели продукта [13]. В качестве дополнительных пищевых источников усвояемого в организме Fe в последнее время рассматриваются такие его нетрадиционные формы, как наночастицы (НЧ) неорганических веществ — солей и окислов Fe (II) и Fe (III) и элементарного Fe [14].

Технологи и исследователи пищевых продуктов уделяют большое внимание использованию нанотехнологий с целью эффективного обогащения пищи железом и доставки лекарств для лечения анемии, поскольку уменьшение размера частиц способствует повышению биодоступности железа. Повышение биодоступности связано с тем, что уменьшение размера частиц увеличивает площадь поверхности соединения железа, что улучшает его растворимость в желудочной кислоте и приводит к более высокой абсорбции. Можно включать гидрофильные и гидрофобные молекулы в наночастицы, используемые в качестве носителей лекарств, без ущерба для стабильности, а сами наночастицы можно вводить перорально или ингаляционно [15]. Наночастицы оксида железа наиболее изучены из-за их уникальных свойств, таких как суперпарамагнетизм, отношение поверхности к объему, большая площадь поверхности, простая методология разделения, биосовместимость и биодоступность. Исследование показывает, что наночастицы Fe_3O_4 феррициклической формы со средним размером в диапазоне 65,95–295,3 нм значительно увеличивают количество эритроцитов по сравнению с группами сульфата железа [6]. Поэтому наночастицы оксида железа имеют большой потенциал применения для пациентов с анемией. Однако имеются исследования, которые демонстрируют, что наночастицы обладают также бактериостатическим эффектом [16,17], цитопротекторным действием [18], а в некоторых случаях проявляют цитотоксические свойства, что заставляет относиться к ним с определенной осторожностью [19,20,21].

Наночастицы железа обладают более высоким риском токсичности, чем растворимые вещества, ввиду их состава, свойств поверхности, размера и формы. Наночастицы обладают высокой сорбционной емкостью. Возможность взаимодействия с биообъектом обусловлена их высокоразвитой активной поверхностью, благодаря размерам (менее 100 нм), сопоставимым с размерами клеток ($10 \div 100$ мкм), вирусов ($20 \div 450$ нм), белков ($5 \div 50$ нм), ДНК (2 нм шириной, $10 \div 100$ нм длиной).

Снижение потенциальной цитотоксичности наночастиц оксида железа может быть достигнуто путем его комбинирования с пищевыми антиоксидантами. Эффективным антиоксидантом, ослабляющим

нейротоксичность, вызванную наночастицами оксида железа, является кверцетин [22]. Он ингибирует агрегацию белка и противодействует перегрузке железом посредством хелатообразующей активности железа, регуляции генов гомеостаза железа, удаления радикалов и ослабления реакции Фентона / Хабера — Вайсса [23]. Этот подход позволяет улучшить биосовместимость и снизить токсичность наночастиц, делая их более безопасными для использования в различных областях, включая медицину и биотехнологии.

Актуальной проблемой является создание биологически активных добавок — источников биодоступного железа, при этом необходима оценка их эффективности и потенциальных токсических рисков перорального воздействия. В большинстве исследований сравнение биодоступности железа из различных соединений традиционно проводят с используемым в качестве эталона сульфатом железа.

Таким образом, целью исследования являлась разработка БАД «ПолиФерВит» и изучение в опытах на лабораторных крысах хронической токсичности и эффективности в сравнении с коммерческими препаратами оксидов железа E172 ($\text{Fe}_2\text{O}_3 + \text{FeO}$) и сернокислого железа ($\text{FeSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$).

Задачи исследования включали научное обоснование состава, разработку рецептуры и технологии БАД и оценку ее влияния на гематологические показатели лабораторных крыс.

2. Объекты и методы

Объектами исследования были:

- железо (II) сернокислое 7-водное ($\text{FeSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$) с массовой долей железа 98% (производитель ООО «Компонент-реактив», далее — сульфат железа);
- смесь оксидов железа E172 ($\text{Fe}_2\text{O}_3 + \text{FeO}$) с массовой долей оксидов железа 98%, воды — не более 0,5% (производитель ООО «Компонент-реактив», далее — смесь оксидов железа E172);
- БАД «ПолиФерВит» для применения в качестве источника железа, витамина С и дигидрокверцетина. Содержит оксиды железа (FeO , Fe_2O_3 , Fe_3O_4), представлен в виде порошка с размером частиц 30–50 нм, который был синтезирован с помощью электроэрозийной дисперсии (ЭЭД) из углеродистой стали в воде;
- витамин С, дигидрокверцетин, пищевые волокна «Флорація».

Технология получения БАД включала перемешивание сырьевых компонентов во вращающихся металлических смесителях в течение 70–80 минут со скоростью вращения смесителя 13 об/мин до равномерного распределения ингредиентов и последующее наполнение капсул смесью на полуавтоматической капсулонаполняющей машине. Средняя масса содержимого капсулы (порошка) — $450,0 \pm 10,0$ мг.

Массовую долю железа в БАД определяли методом, основанным на минерализации продукта способом сухого или мокрого озоления и на определении концентрации железа в растворе минерализата методом пламенной атомной абсорбции по ГОСТ 30178-96¹. Количество витамина С рассчитывали методом визуального титрования с использованием количественного окисления аскорбиновой кислоты раствором 2,6-дихлорфенолиндофенолята натрия в соответствии с Р 4.1.1672² или методом капиллярного электрофореза в соответствии с ГОСТ 31483³. Массовую долю дигидрокверцетина определяли с помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии со спектрофотометрическим детектированием в диапазоне измерений от 0,05 до 990% по ГОСТ Р 57990²; содержание пищевых волокон — ферментативно-гравиметрическим методом по ГОСТ Р 54014³.

Содержание токсичных элементов (свинца, кадмия, ртути) выявляли атомно-абсорбционным методом, основанным на минерализации продукта способом сухого или мокрого озоления и на определении концентрации элемента в растворе минерализата методом пламенной атомной абсорбции по Р 4.1.1672². Содержание пестицидов рассчитывали методом газожидкостной хроматографии, микотоксинов — методом ВЭЖХ с масс-спектрометрическим детектированием. Данный метод основан на экстракции микотоксинов из анализируемой пробы, идентификации и количественном определении их по площадям пиков ион-продуктов с помощью градуиро-

вочной характеристики методом ВЭЖХ–МСМС в режиме мониторинга выбранных реакций (МРМ) по ГОСТ 34140⁴.

Массовую долю влаги (%) вычисляли методом высушивания по формуле:

$$X = 100 \cdot \frac{m_1 - m_2}{m_1}, \quad (1)$$

где m_1 — масса навески до высушивания, г; m_2 — масса навески после высушивания, г.

Биологическое исследование проводили на самках крыс ($n = 40$). Источник линии — ЦКП «Центр генетических ресурсов лабораторных животных», сформированный на базе ЦКП SPF-виварий ИЦиГ СО РАН, Новосибирск, Россия.

Содержание животных и все манипуляции с ними осуществляли в условиях вивария.

После прохождения карантина (7 суток) крыс произвольно распределяли на группы ($n = 40$) методом случайного отбора, используя в качестве критерия массу животного.

1 группа состояла из интактных крыс ($n = 10$), которые содержались при сходных условиях вивария;

2 группа состояла из животных ($n = 10$), которым внутрижелудочно вводили раствор сульфата железа в дозе 8,5 мг/кг/сут;

3 группа состояла из животных ($n = 10$), которым внутрижелудочно вводили раствор смеси оксидов железа E172 в дозе 2,37 мг/кг/сут;

4 группа состояла из животных ($n = 10$), которым внутрижелудочно вводили раствор БАД «ПолиФерВит» в дозе 1,7 мг/кг/сут содержимого 1 капсулы.

Исследуемые объекты в заданных дозировках вводили ежедневно внутрижелудочно одной дозой с помощью внутрижелудочного зонда (США) в течение 32 суток, в одно и то же время (с 11.00 до 12.00).

На протяжении всего периода эксперимента опытных животных содержали в клетках из поликарбоната тип IV («Лабораторкорм», Россия) по 5 голов, при стандартных условиях вивария: температура (21 ± 2) °С, влажность (50 ± 10)%, освещение — режим день/ночь (с 6.00 до 18.00), свободный доступ к воде и корму. В качестве стандартного общевиарного рациона использовали полнорационный комбикорм по ГОСТ 34566⁵ («Лабораторкорм», Россия). Животных взвешивали каждые третьи сутки на электронных лабораторных весах Adventurer PRO AV2101 (Ohaus, США).

На 32 сутки эксперимента крыс усыпляли в камере для эвтаназии ANO44 (VetTech, Великобритания) и отбирали кровь из сердца в пробирки с гепарином (для получения плазмы), в пробирки с ЭДТА (для исследования цельной крови), в пробирки без антикоагулянта (для исследований сыворотки крови).

Все манипуляции проводили с соблюдением Приказа МЗ РФ (№ 267 от 19.06.2003 «Об утверждении правил лабораторной практики», Директив Европейского сообщества 86/609ЕЕС. Исследование одобрено биоэтической комиссией ФГБНУ «ФНЦ пищевых систем им. В. М. Горбатова» РАН (протокол № 01/2019 от 09.05.2019).

Содержание лимфоцитов (LYM), гранулоцитов (GRA) и моноцитов (MON) в крови определяли на проточном цитометре Guava Easy Cyte (Merck Millipore, Germany) посредством детектирования размера и гранулярности клеток. Содержание лейкоцитов определяли расчетным путем по формуле: $\text{WBC} = \text{LYM} + \text{GRA} + \text{MON}$. Относительное содержание лимфоцитов, гранулоцитов и моноцитов выявляли расчетным путем по формулам: $\text{LYM}/\text{WBC} \times 100\%$, $\text{GRA}/\text{WBC} \times 100\%$, $\text{MON}/\text{WBC} \times 100\%$.

Количественное содержание в крови гемоглобина (HGB), гематокрита (HCT), среднего объема эритроцита (MCV), среднего содержания гемоглобина в эритроците (MCH), среднюю концентрацию гемоглобина в эритроцитах (MCHC), ширину распределения эритроцитов (RDWc), тромбоциты (PLT), тромбоцит (PCT), средний объем тромбоцита (MPV), распределение тромбоцитов (PDWc) определяли на полностью автоматическом гематологическом анализаторе BC-2800Vet (Mindray, Китай), используя наборы реактивов компании Mindray.

Биохимические показатели сыворотки крови (концентрацию общего белка, альбумина, общего билирубина, прямого билирубина, креатинина, мочевины, глюкозы, триглицеридов, глюкозы, железа, активности ферментов аланинаминотрансферазы (АЛТ), аспаратаминотрансферазы (АСТ) и щелочной фосфатазы) определяли на

¹ ГОСТ 30178-96 «Сырье и продукты пищевые. Атомно-абсорбционный метод определения токсичных элементов». М.: Стандартинформ, 2010. — 10 с.

² ГОСТ Р 57990-2017 «Продукция пищевая специализированная, биологически активные добавки к пище. Метод определения кверцетина». М.: Стандартинформ, 2018. — 10 с.

³ ГОСТ Р 54014-2010 «Продукты пищевые функциональные. Определение растворимых и нерастворимых пищевых волокон ферментативно-гравиметрическим методом». М.: Стандартинформ, 2019. — 7 с.

⁴ ГОСТ 34140-2017 «Продукты пищевые, корма, продовольственное сырье. Метод определения микотоксинов с помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии с масс-спектрометрическим детектированием». М.: Стандартинформ, 2020. — 18 с.

⁵ ГОСТ 34566-2019 «Комбикорма полнорационные для лабораторных животных. Технические условия». М.: Стандартинформ, 2019. — 10 с.

автоматическом биохимическом анализаторе BioChem FC-360 (НТИ, США), используя наборы реактивов (HighTechnology, США). Коэффициент де Ритиса рассчитывали как отношение активности АСТ к АЛТ.

Для определения показателей антиоксидантной системы (АОС) организма в плазме кровь центрифугировали в центрифуге CM-6M (ELMI, Латвия) в течение 8 мин при 3500 об/мин для отделения плазмы, которую замораживали и хранили при минус 40 °С. Перед измерением показателей АОС образцы плазмы крови размораживали при температуре 4 °С и центрифугировали в течение 8 мин при 10000 об/мин при 4 °С на центрифуге SIGMA 3 30KS (Sigma Laborzentrifugen, Germany). Для оценки АОС определяли общую антиоксидантную емкость (ОАЕ) методами FRAP (Ferric Reducing/Antioxidant Power), рассчитывали концентрацию восстановленного глутатиона (GSH) и активности супероксиддисмутазы (SOD) и каталазы (CAT). Концентрацию общего белка определяли для расчета активностей ферментативных антиоксидантов. Определение ОАЕ в плазме крови методом FRAP проводили на спектрофотометре СФ-2000 (ОКБ «Спектр», Россия) в соответствии с методикой Benzie and Strain (1996 г) [24] с авторскими изменениями [25].

Определение активности SOD вели на спектрофотометре СФ-2000 (ООО «ОКБ Спектр», Россия) в соответствии с методикой [26] с модификациями [27] и собственными изменениями [25].

После эксперимента опытных животных подвергали аутопсии, затем осуществляли тщательное исследование внешней поверхности тела, всех отверстий, грудной и брюшной полостей и их содержимого. У каждого животного после вскрытия были отделены внутренние органы: печень, почка, надпочечник, селезенка, мозг, легкие, тимус и сердце, эпидидимис, семенники. После отделения органы во влажном состоянии были взвешены на электронных лабораторных весах ВЛТЭ-310 («Госметр», Россия) с использованием фильтровальной бумаги.

Для проведения гистологических исследований были отобраны образцы следующих органов: почка, печень, селезенка, мозг. Образцы фиксировали в 10%-ном забуференном растворе формалина (Leica Biosystems, США) в течение 72 часов при температуре (22 ± 2) °С, обезживали в спиртах и пропитывали парафином по методу [28] с помощью процессора Tissue-Tek VIP 5 JR (Sakura, Япония). Срезы толщиной 8 мкм изготавливали на микротоме Microm HM 325 (Microm International GmbH, Германия), окрашивали гематоксилин-эозином («Биовитрум», Россия), обезживали, просветляли и заключали в монтирующую среду («Биовитрум», Россия) по методу [29]. Анализ гистологических препаратов проводили на микроскопе AxioImager A1 с использованием камеры AxioCam MRC 5 и программы AxioVision 4.7.1.0 (Carl Zeiss, Германия).

Статистический анализ проводили с применением программ STATISTICA 10 и SPSS Statistics (IBM, США). Результаты представлялись в виде медианы и стандартного отклонения ($Me \pm SD$) и в процентилях (P 25–75). Статистическая достоверность рассчитывалась с применением дисперсионного анализа (ANOVA) с использованием критерия Даннета. Вероятность $p < 0,05$ была выбрана в качестве значимого уровня.

3. Результаты и обсуждение

В работе [6,30] показано, что применение соединений железа в наноформе увеличивает их биодоступность. Присутствие в составе добавки аскорбиновой кислоты обусловлено ее способностью усиливать всасывание железа, восстанавливать трехвалентное (Fe^{3+}) до двухвалентного [6]. Вместе с тем аноформы железа вызывают окислительный стресс из-за повышенного образования активных форм кислорода [31]. Поэтому использование дегидрокверцетина и пищевых волокон связано с их способностью предотвращать токсическое действие наночастиц железа [32]. В работе [33] авторы также отметили, что введение в состав добавки на основе железа полисахаридов, выделенных из корня лотоса, приводят к снижению токсического действия железа, что было подтверждено в ходе эксперимента *in vitro* и *in vivo*.

Состав биологически активной добавки «ПолиФерВит» приведен в Таблице 1.

Таблица 1. Состав биологически активной добавки «ПолиФерВит»

Table 1. Composition of the biologically active additive “PoliFerVit”

Наименование вещества	Содержание в БАД, в 100 г
Железо, г	4,67 ± 0,79
Витамин С, г	10,02 ± 1,00
Дегидрокверцетин, г	24,84 ± 2,41
Пищевые волокна, г	59,2 ± 0,5

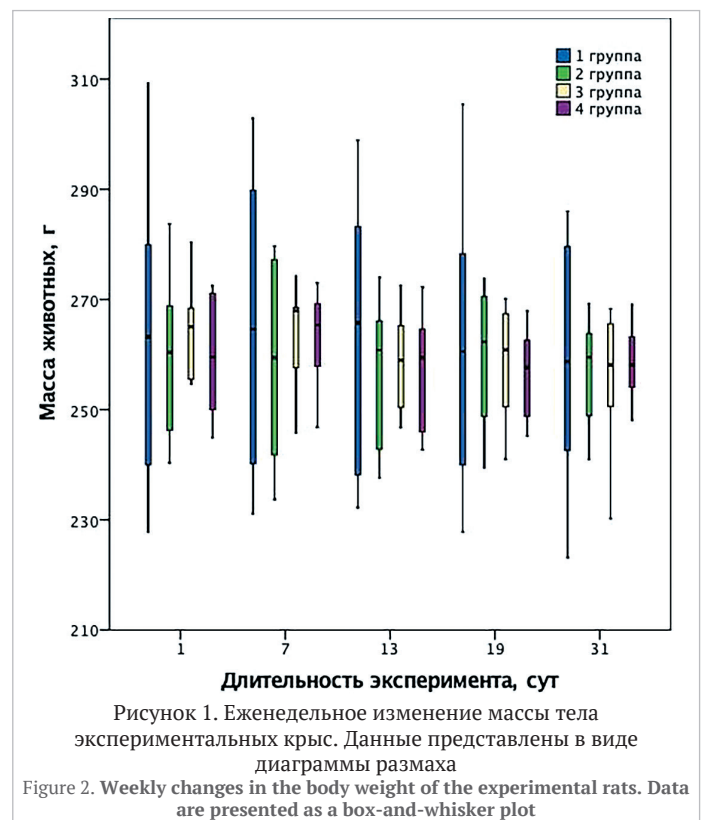
В Таблице 2 приведены результаты исследования физико-химических показателей и безопасности разработанной биологически активной добавки.

Таблица 2. Физико-химические показатели БАД «ПолиФерВит»
Table 2. Physico-chemical indicators of BAA “PoliFerVit”

Показатель	Результат	Допустимый уровень ⁶
Физико-химические показатели:		
Массовая доля влаги, %	4,6 ± 0,1	
Массовая концентрация токсичных элементов, мг/кг:		
Мышьяк	0,12 ± 0,04	Не более 0,2
Ртуть	Менее 0,002	Не более 0,03
Свинец	0,59 ± 0,21	Не более 1,0
Кадмий	Менее 0,1	Не более 0,1
Пестициды хлорорганические, мг/кг:		
ГХЦГ	Менее 0,005	Не более 0,5
ДДТ и его метаболиты	Менее 0,005	Не более 0,02
Микотоксины, мг/кг:		
Афлатоксин В1	Менее 0,00015	
Дезсиниваленол	Менее 0,05	
Зеараленон	Менее 0,005	
T-2 токсин	Менее 0,05	

Как видно из Таблицы 2, разработанная добавка БАД «ПолиФерВит» отвечает требованиям нормативных документов по показателям безопасности.

Анализ массы тела экспериментальных животных выявил отсутствие статистически значимых различий как между группами, так и при сравнении с интактными животными группы 1. Это указывает на стабильность массы тела с небольшими колебаниями в рамках физиологической нормы (Рисунок 1).



Результаты анализа содержания популяций лейкоцитов цельной крови экспериментальных животных групп по завершении эксперимента представлены в Таблице 3. Из-за больших межквартильных

⁶ ТР ТС 2021/2011 Технический регламент Таможенного союза «О безопасности пищевой продукции» (с изменениями на 22 апреля 2024 года). Утв. Решением Комиссии Таможенного союза от 9 декабря 2011 года № 880.

размахов показателей отличия не являлись статистически значимыми. Однако, как видно из Таблицы 3, у животных группы 3 выявлена тенденция к повышению концентрации лейкоцитов на 32,5% ($p = 0,312$), также концентрации лимфоцитов на 32,7% ($p = 0,161$) по сравнению с показателями животных группы 1. Наиболее низкий показатель концентрации лейкоцитов и лимфоцитов отмечен у животных 4 группы (на 14,1% ниже в сравнении с группой 2 ($p = 0,183$) и на 21,6% — в сравнении с группой 3 ($p = 0,585$)). Концентрации лейкоцитов и лимфоцитов в крови животных групп 2, 3 и 4 не имели статистически значимых различий и не отличались от показателей интактных животных группы 1.

Морфологические показатели цельной крови крыс представлены в Таблице 4. При сравнении показателей крови, характеризующих функциональное состояние эритроцитов (концентрация эритроцитов, гемоглобина, гематокрит, средний объем эритроцита, среднее содержание гемоглобина в эритроците и средняя концентрация гемоглобина в эритроцитах), статистически значимых отличий между

экспериментальными животными групп 2, 3 и 4 и интактными крысами группы 1 выявлено не было. В исследовании [34] авторы также отмечают, что не выявили различий в уровне гемоглобина в крови животных при введении им железа Fe (III) или сульфата Fe (II) в течение 14 дней.

При этом отмечена тенденция к снижению ширины распределения эритроцитов в крови животных 2 и 3 групп до 13% ($p = 0,345$, $p = 0,483$) и группы 4 на 11,8% ($p = 0,347$) по сравнению со значениями крыс группы 1. Средний объем тромбоцита в крови животных группы 2 был снижен на 4,3% ($p = 0,043$), в крови животных группы 4 — на 3,4% ($p = 0,030$) относительно значения крыс группы 1. Средний объем тромбоцита у животных группы 3 также был снижен на 3,4% ($p = 0,411$) относительно группы 1.

Результаты биохимического анализа сыворотки крови крыс представлены в Таблице 5. Выявлено увеличение концентрации белка в сыворотке крови животных группы 2 на 17,0% ($p < 0,001$), группы 3 — на 26,5% ($p < 0,001$) и группы 4 — на 20,7% ($p < 0,001$) относительно

Таблица 3. Цитометрический анализ крови крыс в конце эксперимента

Table 3. Cytometric analysis of rat blood at the end of the experiment

Показатели		Группа			
		1 (интакт)	2 (железо (II) сернокислое)	3 (смесь оксидов железа)	4 (БАД «ПолиФерВит»)
Лейкоциты, $10^9/\text{л}$	Me $\pm$ SD	6,87 $\pm$ 2,74	8,30 $\pm$ 2,99	9,10 $\pm$ 2,94	7,13 $\pm$ 1,31
	P 25–75	4,22–8,66	6,19–10,23	5,69–10,42	6,10–7,76
Лимфоциты, $10^9/\text{л}$	Me $\pm$ SD	5,14 $\pm$ 1,84	6,44 $\pm$ 2,20	6,82 $\pm$ 2,34	5,24 $\pm$ 0,98
	P 25–75	3,23–6,13	4,80–7,51	4,03–8,25	4,76–5,53
Моноциты, $10^9/\text{л}$	Me $\pm$ SD	0,03 $\pm$ 0,04	0,04 $\pm$ 0,02	0,05 $\pm$ 0,03	0,04 $\pm$ 0,01
	P 25–75	0,02–0,05	0,02–0,06	0,03–0,07	0,02–0,05
Гранулоциты, $10^9/\text{л}$	Me $\pm$ SD	1,56 $\pm$ 0,95	1,88 $\pm$ 0,86	1,76 $\pm$ 0,71	1,76 $\pm$ 0,49
	P 25–75	1,21–2,37	1,41–2,76	1,31–2,30	1,42–1,93
Лимфоциты, %	Me $\pm$ SD	74,61 $\pm$ 4,64	76,21 $\pm$ 3,55	77,08 $\pm$ 4,25	75,01 $\pm$ 4,59
	P 25–75	70,30–76,46	73,46–77,69	72,65–79,01	72,38–78,08
Моноциты, %	Me $\pm$ SD	0,54 $\pm$ 0,25	0,45 $\pm$ 0,11	0,58 $\pm$ 0,19	0,51 $\pm$ 0,13
	P 25–75	0,38–0,71	0,40–0,58	0,47–0,68	0,42–0,60
Относит. сод-е гранулоцитов, %	Me $\pm$ SD	24,84 $\pm$ 4,59	23,45 $\pm$ 3,54	22,41 $\pm$ 4,21	24,40 $\pm$ 4,52
	P 25–75	23,27–29,33	21,86–25,99	20,23–26,34	21,56–26,90

Примечание: результаты представлены в виде медианы и стандартного отклонения (Me $\pm$ SD) и в процентиях (P 25–75). При анализе ANOVA с использованием критерия Даннета статистически значимых отличий не выявлено.

Таблица 4. Гематологический анализ крови экспериментальных крыс

Table 4. Hematological analysis of blood of experimental rats

Показатели		Группа			
		1 (интакт)	2 (железо (II) сернокислое)	3 (смесь оксидов железа)	4 (БАД «ПолиФерВит»)
Эритроциты, $10^{12}/\text{л}$	Me $\pm$ SD	7,39 $\pm$ 0,59	7,76 $\pm$ 0,68	7,76 $\pm$ 0,81	7,92 $\pm$ 0,98
	P 25–75	7,07–7,73	7,32–8,09	7,57–8,02	6,67–8,25
Гемоглобин, г/л	Me $\pm$ SD	159,00 $\pm$ 5,36	156,25 $\pm$ 7,91	156,00 $\pm$ 9,96	161,00 $\pm$ 11,06
	P 25–75	156,00–162,00	152,00–162,00	152,00–159,50	153,00–163,00
Гематокрит, %	Me $\pm$ SD	47,60 $\pm$ 1,51	46,93 $\pm$ 3,13	46,60 $\pm$ 3,46	48,85 $\pm$ 3,21
	P 25–75	47,05–48,20	45,60–48,60	45,10–48,20	45,80–49,30
Ср. объем эритроцита, мкм ³	Me $\pm$ SD	65,10 $\pm$ 4,48	60,45 $\pm$ 4,67	60,23 $\pm$ 2,67	62,35 $\pm$ 4,82
	P 25–75	61,10–68,50	60,10–63,50	59,70–60,60	59,50–68,80
Ср. сод-е гемоглобина в эритроците, пг	Me $\pm$ SD	21,70 $\pm$ 1,41	20,05 $\pm$ 1,04	20,05 $\pm$ 1,23	20,80 $\pm$ 1,60
	P 25–75	20,20–22,70	19,90–21,10	19,90–20,20	19,60–22,70
Ср. концентрация гемоглобина в эритроцитах, г/л	Me $\pm$ SD	332,50 $\pm$ 3,47	331,75 $\pm$ 17,52	334,00 $\pm$ 10,60	330,50 $\pm$ 3,31
	P 25–75	331,50–334,00	329,00–334,00	332,00–336,00	328,00–334,00
Ширина распространения эритроцитов, %	Me $\pm$ SD	12,25 $\pm$ 1,45	10,70 $\pm$ 1,42	10,70 $\pm$ 2,54	10,80 $\pm$ 1,87
	P 25–75	10,50–13,20	10,50–11,30	10,55–10,80	10,70–14,00
Тромбоциты, $10^9/\text{л}$	Me $\pm$ SD	712,00 $\pm$ 79,14	742,00 $\pm$ 90,23	745,50 $\pm$ 112,35	720,50 $\pm$ 48,39
	P 25–75	661,00–742,00	667,00–812,50	727,00–800,00	697,00–748,00
Ср. объем тромбоцита, мкм ³	Me $\pm$ SD	5,85 $\pm$ 0,24 ^a	5,60 $\pm$ 0,16 ^a	5,65 $\pm$ 0,29	5,65 $\pm$ 0,21 ^a
	P 25–75	5,60–6,00	5,50–5,70	5,60–5,80	5,40–5,70
Распределение тромбоцитов, %	Me $\pm$ SD	16,20 $\pm$ 0,11	16,18 $\pm$ 0,17	16,10 $\pm$ 0,17	16,10 $\pm$ 0,09
	P 25–75	16,10–16,30	16,05–16,25	16,05–16,20	16,10–16,20
Тромбокрит, %	Me $\pm$ SD	0,40 $\pm$ 0,05	0,41 $\pm$ 0,04	0,43 $\pm$ 0,05	0,41 $\pm$ 0,03
	P 25–75	0,37–0,44	0,38–0,45	0,41–0,46	0,38–0,42

Примечание: результаты представлены в виде медианы и стандартного отклонения (Me $\pm$ SD) и в процентиях (P 25–75); ^a — $p < 0,05$ при сравнении относительно группы 1 (ANOVA с использованием критерия Даннета).

показателя интактных крыс. У крыс группы 3 относительно группы 2 значение данного показателя было на 8,1% ($p = 0,018$) выше.

Концентрация альбумина в крови животных групп 1, 2 и 3 статистически достоверно снижалась относительно значений показателя крови животных группы 4 на 6,7% ($p = 0,008$), 7,7% ($p = 0,001$) и 2,9% ($p = 0,032$) соответственно. Статистически значимых отличий в концентрациях креатинина, мочевины, а также общего и прямого билирубина в сыворотке крови животных всех групп не было выявлено. Отмечена тенденция к согласованному повышению активности АСТ на 5,5% ($p = 0,034$) и АЛТ на 15,8% ($p = 0,596$), выявленному в сыворотке крови животных группы 4 по сравнению с животными группы 1. Активность щелочной фосфатазы в сыворотке крови животных группы 4 в сравнении с группами животных 1, 2 и 3 была ниже на 20,1% ($p = 0,001$), 13,2% ($p = 0,013$) и 19,7% ($p < 0,001$) соответственно.

По концентрации триглицеридов можно увидеть тенденцию к их снижению в группах животных 2 и 4 по сравнению со значениями для группы 1, состоящей из интактных животных на 12,6% ($p = 0,789$; $p = 0,373$).

У животных группы 3 в сыворотке крови концентрация глюкозы по сравнению с группами 1 и 2 была статистически значимо выше на 8,0% ($p < 0,05$) и на 15,3% ($p < 0,05$) соответственно; для группы 4 концентрация глюкозы статистически значимо не отличалась от данного показателя для других групп.

Согласно данным Таблицы 5, при сравнении всех групп животных статистически значимых отличий в концентрации железа в сыворотке крови не обнаружено из-за больших межквартильных размахов. При этом выявлена тенденция к повышению концентрации железа в сыворотке крови животных групп 3 и 4 в сравнении с группой 1 на 16,8% ($p = 0,108$) и 22,1% ($p = 0,052$) соответственно.

Препараты железа и БАД «ПолиФерВит» приводили к снижению антиоксидантной емкости плазмы крови крыс (Таблица 6). В плазме экспериментальных животных 2, 3 и 4 групп общая антиоксидантная емкость, измеренная методом FRAP, была достоверно ниже, чем у крыс группы 1: для животных группы 2 — на 14,0% ($p < 0,001$); для животных группы 3 — на 13,0% ($p < 0,001$), для крыс группы 4 — на 20,0% ($p = 0,001$). У животных 4 группы уровень общей антиоксидантной емкости был достоверно ниже, чем у крыс групп 2, на 7,0% ($p = 0,014$) и 3 — на 9,0% ($p = 0,018$) соответственно. Концентрация восстановленного глутатиона у животных групп 2 и 4 соответствовала показателю интактных крыс группы 1, у крыс группы 3 выявлено увеличение данного показателя относительно животных группы 1 на 9,0% ($p = 0,036$). В нашем исследовании активность супероксиддисмутазы в плазме крыс группы 4, которым вводили БАД «ПолиФерВит», увеличивалась относительно животных остальных групп: относительно показателя интактных крыс группы 1 — на 44,0% ($p < 0,001$), относительно показателя крыс группы 2 — на 45,3% ($p < 0,001$), относительно показателя крыс группы 3 — на 48,0% ($p < 0,001$). Активность каталазы достоверно снижалась в плазме крови крыс групп 2 и 3 относительно интактных крыс группы 1 на 48,0% ($p < 0,001$) и на 34,0% ($p < 0,001$) соответственно. В крови крыс группы 4 активность каталазы снижалась лишь на 6,3% относительно интактных животных (рис. 2). Менее выраженное снижение каталазы в крови крыс 4 группы, видимо, связано с присутствием в добавке «ПолиФерВит» дигидрокверцетина, который подавляет окислительные процессы. Полученные данные согласуются с результатами исследований авторов [35], которые выявили, что применение комплекса железа с кверцетином привело к значительному повышению активности каталазы и к снижению карбонилирования белков и уровня веществ, реагирующих с тиобарбитуровой кислотой, в жировой ткани крыс

с моделированным диабетом. Анализ ряда исследований позволил Кейж и др. [36] предположить, что совместное использование дигидрокверцетина и солей железа эффективнее, чем отдельное их использование для достижения антиоксидантной активности.

В работе [22] авторы показывают, что наночастицы железа индуцируют апоптоз клетки, что приводит к снижению активности антиоксидантных ферментов. Применение кверцетина способствует восстановлению гепатоцитов, подвергшихся воздействию наноксидов железа.

По данным авторов [37], в некоторых случаях наночастицы сохраняются в организме в течение длительного периода из-за замедленного выведения и тем самым нарушают нормальное функционирование органов или тканей, вызывая хроническую и метаболическую токсичность организма. Поэтому, чтобы свести к минимуму возможные риски для здоровья, проведены исследования анатомического строения внутренних органов животных.

По результатам макроскопического исследования внутренних органов крыс по завершении исследования выраженных различий между экспериментальными группами не было выявлено.

Относительная масса анализируемых внутренних органов соответствовала физиологической норме для данного вида, возраста и пола, статистически значимых различий между группами не выявлено. Выявлена тенденция к увеличению относительной массы сердца на 10,0% ($p = 0,538$) и к уменьшению относительной массы селезенки на 15,0% ($p = 0,718$) у крыс группы 4 относительно крыс группы 1.

По данным авторов [38,39], избыток железа в рационе крыс может вызвать гистопатологию печени, поджелудочной железы, селезенки и сердца и привести к клеточному апоптозу или некрозу в органах.

Результаты собственных гистологических исследований образцов печени крыс группы 1 показали отсутствие изменений в архитектонике ткани (Рисунок 2А). Отмечены одноядерные и многоядерные

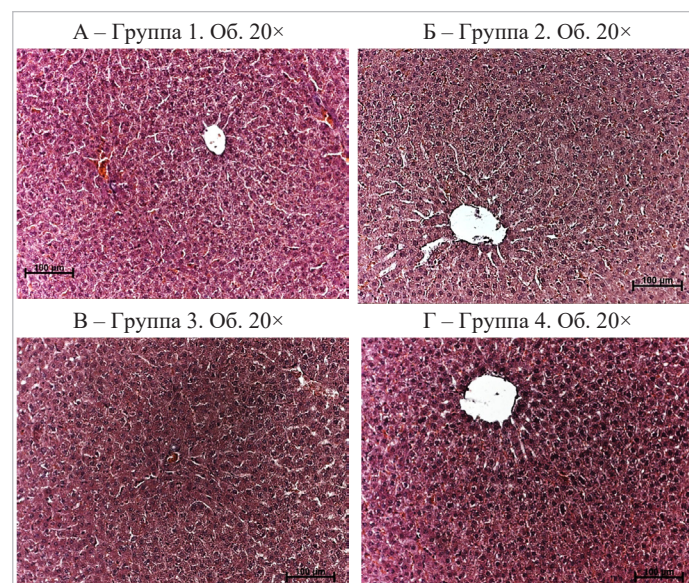


Рисунок 2. Репрезентативные снимки гистологических срезов печени экспериментальных крыс. Окрашивание гематоксилином и еозином. Ув. 20х

Figure 2. Representative images of histological sections of liver of experimental rats. Staining with hematoxylin and eosin. Magnification 20х

Таблица 6. Показатели антиоксидантной системы плазмы крови экспериментальных животных

Table 6. Indicators of the antioxidant system of blood plasma of experimental animals

Показатель АОС		Группа			
		1 (интакт)	2 (железо (II) сернокислое)	3 (смесь оксидов железа)	4 (БАД «ПолиФерВит»)
FRAP, мкмоль-экв. кверцетина / л	Me ± SD	142,48 ± 8,11	122,68 ± 6,70 ^{a, c}	124,62 ± 6,33 ^{a, c}	114,00 ± 2,78 ^a
	P 25–75	136,38–47,57	115,07–128,15	118,23–125,73	112,90–117,65
GSH, мкмоль / л	Me ± SD	93,99 ± 9,41	94,99 ± 11,56	102,80 ± 4,64 ^a	92,79 ± 8,88
	P 25–75	83,77–98,68	87,46–106,49	100,95–105,64	90,44–101,24
SOD, П%/мин/мг белка	Me ± SD	4,37 ± 0,41 ^c	4,68 ± 0,39 ^c	4,59 ± 0,58 ^c	6,80 ± 0,58
	P 25–75	4,13–4,70	4,36–4,95	4,07–5,08	6,42–7,05
CAT, ммоль/мин/г белка	Me ± SD	1,89 ± 0,16	0,99 ± 0,11 ^{a, c}	1,24 ± 0,10 ^{a, c}	1,77 ± 0,08
	P 25–75	1,85–2,00	0,91–1,04	1,18–1,28	1,72–1,81

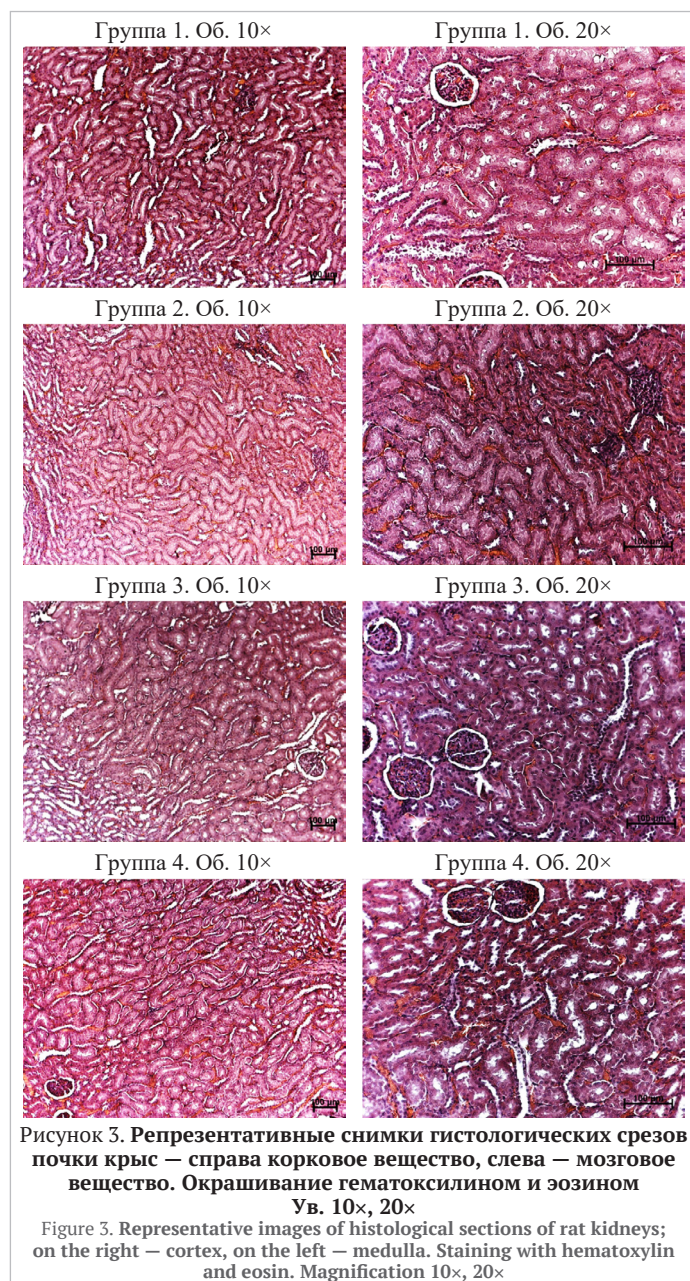
Примечание: результаты представлены в виде медианы и стандартного отклонения (Me ± SD) и в процентилях (P 25–75); ^a — $p < 0,05$ при сравнении относительно группы 1 (ANOVA с использованием критерия Даннета); ^c — $p < 0,05$ при сравнении относительно группы 4 (ANOVA с использованием критерия Даннета).

гепатоциты (что является физиологической нормой), расположенные радиально от центральной вены, кровяных телец в сосуде; портальные триады в норме, дольчатое строение сохранено.

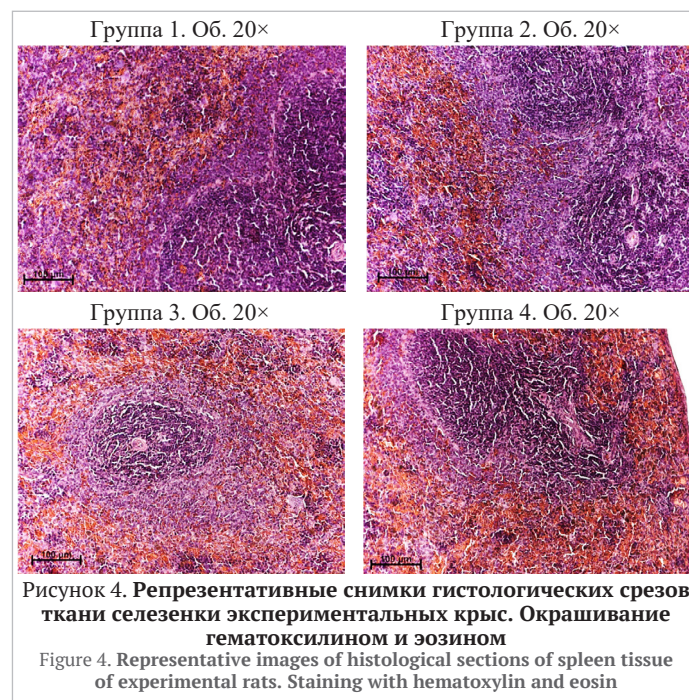
Ткань печени крыс группы 2 характеризовалась дольчатым строением, одноядерными и многоядерными гепатоцитами, портальные триады в норме; наблюдались признаки начинающейся вакуолизации гепатоцитов: посветлевшая, в единичных случаях «пустая» цитоплазма, заполненная жидкостью (Рисунок 2Б). При исследовании печени крыс групп 3 и 4 (Рисунки 2В, 2Г) выявлена сохранность дольчатого строения ткани, портальные триады в норме — одноядерные и многоядерные гепатоциты расположены радиально от центральной вены. Авторы [40] исследовали влияние агарового олигосахаридно-железного комплекса («АОС-железо») на морфологию печени крыс, страдающих анемией. Гистологический анализ показал, что применение «АОС-железо» не оказало влияния на архитектуру ткани печени крыс, потреблявших данный комплекс.

При гистологическом исследовании почек экспериментальных крыс патологических изменений в корковом и мозговом веществе не было выявлено: почечные тельца и Боуменово пространство, нисходящие и восходящие сегменты петли Генле, эпителии канальцев в норме (Рисунок 3).

Нарушение регуляции метаболизма железа при таких заболеваниях, как тяжелый диабет, приводит к накоплению железа и к эндогенной биоминерализации железа в красной пульпе селезенки, которая фильтрует кровь и разрушает эритроциты, что, в свою очередь, приводит к повреждению селезенки [41].



Результаты собственных гистологических исследований образцов селезенки крыс всех групп показало отсутствие патологических изменений — белая пульпа, состоящая из лимфатической ткани, окрашена базофильно, наблюдалось постоянство нормального диаметра и расположения белой пульпы, нормальное кровенаполнение центральной артерии, количество лимфоцитов в норме, в большинстве участков белой пульпы имеется зародышевый центр лимфоцитов. Маргинальная зона между белой и красной пульпой в норме, характеризуется наличием макрофагов, лимфоцитов и дендритных клеток, взаимодействующих между собой (Рисунок 4).



Авторы [42] считают, что мозг особенно восприимчив к окислительному стрессу, вызванному избытком железа, что может вызвать нейротоксичность и когнитивные нарушения.

Результаты собственных исследований показали, что в мозге крыс всех групп патологических изменений не обнаружено ни в одной из структур (Рисунок 5) — отмечались единичные нейроны с признаками гибели, что является нормальным физиологическим процессом, глиальные клетки сохраняли свою структуру и располагались хаотично, наблюдалось небольшое количество капилляров с присутствием эритроцитов. В исследованиях авторов [43] показано положительное влияние совместного использования наночастиц железа и селена на восстановительную функцию мозга.

4. Выводы

Разработана биологически активная добавка к пище БАД «ПолиФерВит», в состав которой входят оксиды железа FeO , Fe_2O_3 , Fe_3O_4 с размером частиц 30–50 нм, витамин С, дигидрокверцетин, пищевые волокна «Флорация». Добавка содержит значительное количество железа, которое составляет 136% от суточной потребности, благодаря чему, она может применяться для устранения дефицита железа. Содержание витамина С обеспечивает 70% от суточной потребности в нем и одновременно будет способствовать лучшей усвояемости железа. БАД содержит большое количество дигидрокверцетина, способствующего снижению окислительного стресса, вызываемого железом. Также в составе добавки присутствует пребиотическое пищевое волокно «Флорация», полученное из отборной смолы дерева акации. Волокно состоит из длинноцепочных полисахаридов и короткоцепочных фруктоолигосахаридов. Пребиотик в составе добавки позволит повысить усвоение железа и будет оказывать благоприятное воздействие на микробиоту кишечника.

Сравнение биологической активности и хронической токсичности БАД «ПолиФерВит» и коммерческих препаратов железа и показало, что все исследуемые объекты при ежедневном введении лабораторным животным в течение 32 суток не оказывали влияния на массу тела животных и на их физиологическое состояние, а также не вызвали изменений основных показателей общего анализа крови, в частности, в лейкоцитарной формуле.

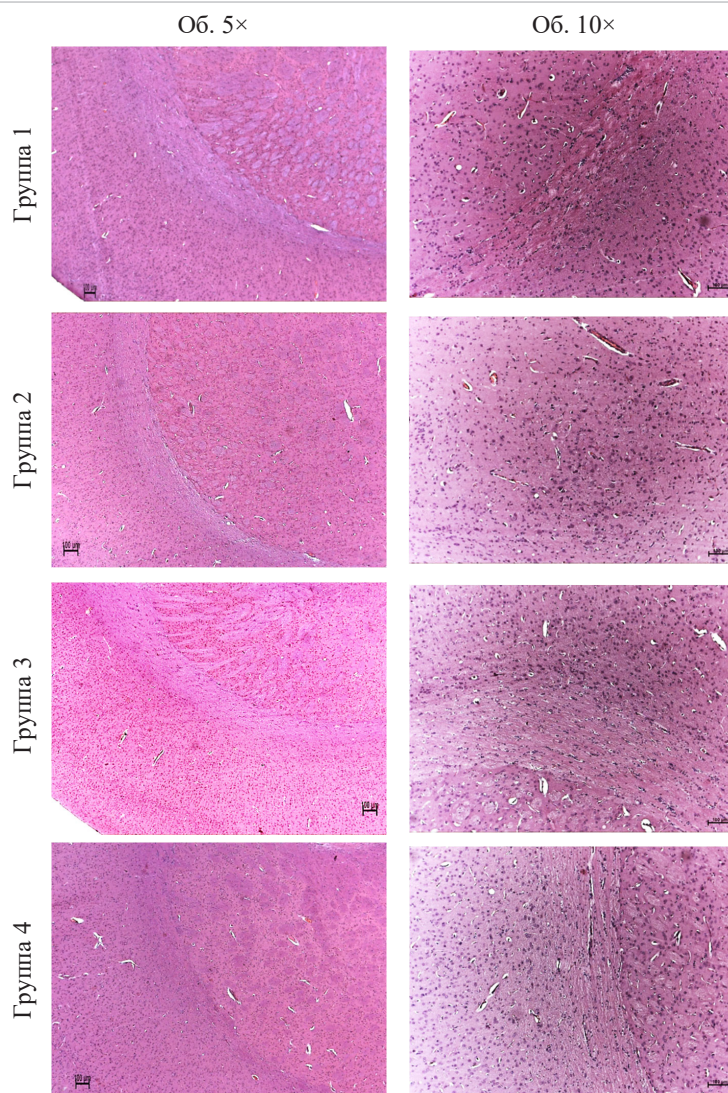


Рисунок 5. Репрезентативные снимки гистологических срезов мозга крыс. Окрашивание гематоксилином и эозином. Ув. 5х, 10х
Figure 5. Representative images of histological sections of rat brain. Staining with hematoxylin and eosin. Magnification 5х, 20х

Выявленная динамика к увеличению содержания сывороточного железа при употреблении смеси оксидов железа (до 17%) и БАД «ПолиФерВит» (до 22%) свидетельствует о сходной биодоступности, причем биодоступность БАД «ПолиФерВит» более высокая, что, вероятно, связано с наноразмером частиц железа и с комбинированным составом добавки.

Другим важным преимуществом БАД «ПолиФерВит» является сниженное негативное влияние на антиоксидантную систему, что выражалось в увеличении активности супероксиддисмутазы на 44% и в снижении активности каталазы на 6,3% по сравнению с интактной группой. В препаратах, содержащих железо сернокислое 7-водное ($\text{FeSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$) и смесь оксидов железа E172 ($\text{Fe}_2\text{O}_3 + \text{FeO}$), снижение активности каталазы составило 47,6% и 34,3%, а увеличение активности супероксиддисмутазы — 7% и 5% соответственно по сравнению с контрольной группой. Видимо, это связано с наличием

в БАД «ПолиФерВит» антиоксидантов — аскорбиновой кислоты и дигидрокверцетина.

При гистологическом исследовании образцов тканей крыс, которым вводили БАД «ПолиФерВит» и смесь оксидов железа, выявлена сохранность дольчатого строения ткани. Портальные триады в норме. Отмечены одноядерные и многоядерные гепатоциты, расположенные радиально от центральной вены. В образцах тканей крыс, потреблявших сернокислое железо, найдены признаки начинающейся вакуолизации гепатоцитов, отмечены случаи скопления лимфоидных клеток, что может свидетельствовать о начальной стадии печеночной дистрофии.

Таким образом, сравнение биологической активности и хронической токсичности соединений железа и БАД «ПолиФерВит» позволяет сделать вывод о ряде преимуществ применения последнего в качестве источника железа, витамина С и дигидрокверцетина.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК / REFERENCES

- Nielsen, O. H., Soendergaard, C., Vikner, M. E., Weiss, G (2018). Rational management of iron-deficiency anemia in inflammatory bowel disease. *Nutrients*, 10(1), Article 82. <https://doi.org/10.3390/nu10010082>
- Stevens, G. A., Paciorek, C. J., Flores-Urrutia, M. C., Borghi, E., Namaste, S., Wirth, J. P. et al. (2022). National, regional, and global estimates of anaemia by severity in women and children for 2000–19: A pooled analysis of population-representative data. *The Lancet Global Health*, 10(5), e627–e639. [https://doi.org/10.1016/s2214-109x\(22\)00084-5](https://doi.org/10.1016/s2214-109x(22)00084-5)
- Kumar, P., Sharma, H., Sinha, D. (2021). Socio-economic inequality in anaemia among men in India: A study based on cross-sectional data. *BMC Public Health*, 21(1), Article 1345. <https://doi.org/10.1186/s12889-021-11393-5>
- Редакционная статья. (2020). Отчет о работе Экспертного совета «Актуальные вопросы железодефицита в Российской Федерации». *Терапия*, 6(5(39)), 10–19. [Editorial article. (2020). Report on work performed by Expert council «Actual aspects of iron deficiency in the Russian Federation» *Therapy*, 6(5(39)), 10–19. (In Russian)] <https://doi.org/10.18565/therapy.2020.5.10-19>
- Ciont, C., Mesaroş, A., Pop, O. L., Vodnar, D. C. (2023). Iron oxide nanoparticles carried by probiotics for iron absorption: A systematic review. *Journal of Nanobiotechnology*, 21(1), Article 124. <https://doi.org/10.1186/s12951-023-01880-9>
- Kumari, A., Chauhan, A. K. (2022). Iron nanoparticles as a promising compound for food fortification in iron deficiency anemia: A review. *Journal of Food Science and Technology*, 59(9), 3319–3335. <https://doi.org/10.1007/s13197-021-05184-4>
- Shubham, K., Anukiruthika, T., Dutta, S., Kashyap, A. V., Moses, J. A., Anandharamakrishnan, C. (2020). Iron deficiency anemia: A comprehensive review on iron absorption, bioavailability and emerging food fortification approaches. *Trends in Food Science and Technology*, 99, 58–75. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2020.02.021>

8. Henare, S. J., Singh, N. N., Ellis, A. M., Moughan, P. J., Thompson, A. K., Walczyk, T. (2019). Iron bioavailability of a casein-based iron fortificant compared with that of ferrous sulfate in whole milk: A randomized trial with a crossover design in adult women. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 110(6), 1362–1369. <https://doi.org/10.1093/ajcn/nqz237>
9. Hurrell, R. F. (2022). Ensuring the efficacious iron fortification of foods: A tale of two barriers. *Nutrients*, 14(8), Article 1609. <https://doi.org/10.3390/nu14081609>
10. Husmann, F. M., Stierli, L., Bräm, D. S., Zeder, C., Krämer, S. D., Zimmermann, M. B. et al. (2022). Kinetics of iron absorption from ferrous fumarate with and without galacto-oligosaccharides determined from stable isotope appearance curves in women. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 115(3), 949–957. <https://doi.org/10.1093/ajcn/nqab361>
11. Ahmad, A. M. R., Ahmed, W., Iqbal, S., Javed, M., Rashid, S. (2021). Prebiotics and iron bioavailability? Unveiling the hidden association-A review. *Trends in Food Science and Technology*, 110, 584–590. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2021.01.085>
12. Коденцова, В. М., Рисник, Д. В., Бессонов, В. В. (2023). Соединения железа для обогащения пищевых продуктов: сравнительный анализ эффективности. *Микроэлементы в медицине*, 24(1), 10–19. [Kodentsova, V.M., Risnik, D.V., Bessonov, V.V. (2023). Iron compounds for food fortification: Comparative analysis of efficiency. *Trace Elements in Medicine (Moscow)*, 24(1), 10–19. (In Russian)] <https://doi.org/10.19112/2413-6174-2023-24-1-10-19>
13. Blanco-Rojo, R., Vaquero, M. P. (2019). Iron bioavailability from food fortification to precision nutrition. A review. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 51, 126–138. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2018.04.015>
14. Askri, D., Ouni, S., Galai, S., Chovelon, B., Arnaud, J., Sturm, N. et al. (2019). Nanoparticles in foods? A multiscale physiopathological investigation of iron oxide nanoparticle effects on rats after an acute oral exposure: Trace element biodistribution and cognitive capacities. *Food and Chemical Toxicology*, 127, 173–181. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2019.03.006>
15. Singh, K., Chopra, D. S., Singh, D., Singh, N. (2022). Nano-formulations in treatment of iron deficiency anemia: An overview. *Clinical Nutrition ESPEN*, 52, 12–19. <https://doi.org/10.1016/j.clnesp.2022.08.032>
16. Serov, D. A., Baimler, I. V., Burmistrov, D. E., Baryshev, A. S., Yanykin, D. V., Astashev, M. E. et al. (2022). The development of new nanocomposite Polytetrafluoroethylene/Fe₂O₃ NPs to prevent bacterial contamination in meat industry. *Polymers*, 14(22), Article 4880. <https://doi.org/10.3390/polym14224880>
17. Gudkov, S. V., Burmistrov, D. E., Lednev, V. N., Simakin, A. V., Uvarov, O. V., Kucherov, R. N. et al. (2022). Biosafety construction composite based on iron oxide nanoparticles and PLGA. *Inventions*, 7(3), Article 61. <https://doi.org/10.3390/inventions7030061>
18. Siddiqui, M. A., Wahab, R., Saquib, Q., Ahmad, J., Farshori, N. N., Al-Sheddi, E. S. et al. (2023). Iron oxide nanoparticles induced cytotoxicity, oxidative stress, cell cycle arrest, and DNA damage in human umbilical vein endothelial cells. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 80, Article 127302. <https://doi.org/10.1016/j.jtemb.2023.127302>
19. Ince, M., Ince, O. K., Ondrasek, G. (2020). Biochemical toxicology — Heavy metals and nanomaterials. IntechOpen: London, UK, 2020. <https://doi.org/10.5772/intechopen.85340>
20. Kheiri, S., Liu, X., Thompson, M. (2019). Nanoparticles at biointerfaces: Antibacterial activity and nanotoxicology. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 184, Article 110550. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2019.110550>
21. Sarimov, R. M., Nagaev, E. I., Matveyeva, T. A., Binhi, V. N., Burmistrov, D. E., Serov, D. A. et al. (2022). Investigation of aggregation and disaggregation of self-assembling nano-sized clusters consisting of individual iron oxide nanoparticles upon interaction with HEWL protein molecules. *Nanomaterials*, 12(22), Article 3960. <https://doi.org/10.3390/nano12223960>
22. Sarkar, A., Sil, P. C. (2014). Iron oxide nanoparticles mediated cytotoxicity via PI3K/AKT pathway: Role of quercetin. *Food and Chemical Toxicology*, 71, 106–115. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2014.06.003>
23. Bardestani, A., Ebrahimpour, S., Esmaeili, A., Esmaeili, A. (2021). Quercetin attenuates neurotoxicity induced by iron oxide nanoparticles. *Journal of Nanobiotechnology*, 19(1), Article 327. <https://doi.org/10.1186/s12951-021-01059-0>
24. Benzie, I. F. F., Strain, J. J. (1996). The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of “antioxidant power”: The FRAP assay. *Analytical Biochemistry*, 239(1), 70–76. <https://doi.org/10.1006/abio.1996.0292>
25. Chernukha, I., Fedulova, L., Vasilevskaya, E., Kulikovskii, A., Kupaeva, N., Kotenkova, E. (2021). Antioxidant effect of ethanolic onion (*Allium cepa*) husk extract in ageing rats. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 28(5), 2877–2885. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2021.02.020>
26. Ellman, G. L. (1959). Tissue sulfhydryl groups. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 82(1), 70–77. [https://doi.org/10.1016/0003-9861\(59\)90090-6](https://doi.org/10.1016/0003-9861(59)90090-6)
27. Marklund, S., Marklund, G. (1974). Involvement of the superoxide anion radical in the autoxidation of pyrogallol and a convenient assay for superoxide dismutase. *European Journal of Biochemistry*, 47(3), 469–474. <https://doi.org/10.1111/j.1432-1033.1974.tb03714.x>
28. Величко, А. К., Соловьев, В. Б., Генгин, М. Т. (2009). Методы лабораторного определения общей перекиси разрушающей активности ферментов растений. *Известия Пензенского государственного педагогического университета им. В. Г. Белинского*, 18, 44–48. [Velichko, A.K., Solovov, V.B., Genghin, M.T. (2009). Methods of laboratory definition of the common peroxide of destroying activity of enzymes of plants. *Bulletin of Penza State Pedagogical University named after V. G. Belinsky*, 18, 44–48.]
29. Семченко, В. В., Барашкова, С. А., Ноздрин, В. И., Артемьев, В. Н. (2006). Гистологическая техника. Учебное пособие. Омск–Орел: Омская областная типография, 2006. [Semchenko, V.V., Barashkova, S.A., Nozdryn, V.I., Artemev, V.N. (2006). *Histological Technique*. Textbook. Omsk-Oryol: Omsk Regional Printing House, 2006.]
30. Pereira, D. I. A., Bruggaber, S. F. A., Faria, N., Poots, L. K., Tagmount, M. A., Aslam, M. F. et al. (2014). Nanoparticulate iron (III) oxo-hydroxide delivers safe iron that is well absorbed and utilised in humans. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine*, 10(8), 1877–1886. <https://doi.org/10.1016/j.nano.2014.06.012>
31. El-Kady, M. M., Ansari, I., Arora, C., Rai, N., Soni, S., Verma, D. K. et al. (2023). Nanomaterials: A comprehensive review of applications, toxicity, impact, and fate to environment. *Journal of Molecular Liquids*, 370, Article 121046. <https://doi.org/10.1016/j.molliq.2022.121046>
32. Foudjar, R., Chopra, H. K., Bera, M. B., Chauhan, A. K., Mahajan, P. (2021). Effect of probe ultrasonication, microwave and sunlight on biosynthesis, bioactivity and structural morphology of punica granatum peel's polyphenols-based silver nanoconjugates. *Waste and Biomass Valorization*, 12, 2283–2302. <https://doi.org/10.1007/s12649-020-01175-2>
33. Yuan, S., Dong, P.-Y., Ma, H.-H., Liang, S.-L., Li, L., Zhang, X.-F. (2022). Antioxidant and biological activities of the Lotus root polysaccharide-iron (III) complex. *Molecules*, 27(20), Article 7106. <https://doi.org/10.3390/molecules27207106>
34. Ghosh, R., Arcot, J. (2022). Fortification of foods with nano-iron: Its uptake and potential toxicity: Current evidence, controversies, and research gaps. *Nutrition Reviews*, 80(9), 1974–1984. <https://doi.org/10.1093/nutrit/nuac011>
35. Mahesh, T., Menon, V. P. (2004). Quercetin alleviates oxidative stress in streptozotocin-induced diabetic rats. *Phytotherapy Research*, 18(2), 123–127. <https://doi.org/10.1002/ptr.1374>
36. Kejřík, Z., Kapláněk, R., Masařík, M., Babula, P., Matkowski, A., Filipenský, P. et al. (2021). Iron complexes of flavonoids-antioxidant capacity and beyond. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(2), Article 646. <https://doi.org/10.3390/ijms22020646>
37. Li, J., Chang, X., Chen, X., Gu, Z., Zhao, F., Chai, Z. et al. (2014). Toxicity of inorganic nanomaterials in biomedical imaging. *Biotechnology Advances*, 32(4), 727–743. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2013.12.009>
38. Fang, S., Zhuo, Z., Yu, X., Wang, H., Feng, J. (2018). Oral administration of liquid iron preparation containing excess iron induces intestine and liver injury, impairs intestinal barrier function and alters the gut microbiota in rats. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 47, 12–20. <https://doi.org/10.1016/j.jtemb.2018.01.002>
39. Whittaker, P., Hines, F. A., Robl, M. G., Dunkel, V. C. (1996). Histopathological evaluation of liver, pancreas, spleen, and heart from iron-overloaded sprague-dawley rats. *Toxicologic Pathology*, 24(5), 558–563. <https://doi.org/10.1177/019262339602400504>
40. He, H., Huang, Q., Liu, C., Jia, S., Wang, Y., An, F. et al. (2019). Effectiveness of AOS — iron on iron deficiency anemia in rats. *RSC Advances*, 9(9), 5053–5063. <https://doi.org/10.1039/C8RA08451C>
41. Guo, R., Zhang, L., Song, D., Yu, B., Song, C., Chen, H. et al. (2024). Endogenous iron biomineralization in the mouse spleen of metabolic diseases. *Fundamental Research*. <https://doi.org/10.1016/j.fmre.2024.07.004> (In Press, Corrected Proof)
42. Sripetchwandee, J., Kongkaew, A., Kumfu, S., Chattipakorn, N., Chattipakorn, S. C. (2025). Modulating mitochondrial dynamics preserves cognitive performance via ameliorating iron-mediated brain toxicity in iron-overload rats. *European Journal of Pharmacology*, 593, Article 177379. <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2025.177379>
43. Turovsky, E. A., Plotnikov, E. Y., Simakin, A. V., Gudkov, S. V., Varlamova, E. G. (2025). New magnetic iron nanoparticle doped with selenium nanoparticles and the mechanisms of their cytoprotective effect on cortical cells under ischemia-like conditions. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 764, Article 110241. <https://doi.org/10.1016/j.abb.2024.110241>

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ	AUTHOR INFORMATION
Принадлежность к организации	Affiliation
Дыдыкин Андрей Сергеевич — доктор технических наук, доцент, ведущий отделом функционального и специализированного питания, Федеральный научный центр пищевых систем им. В. М. Горбатова 109316, Москва, ул. Талалихина, 26. Тел.: +7-495-676-95-11 (264) E-mail: a.didikin@fncps.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0002-0208-4792 Василевская Екатерина Романовна — кандидат технических наук, 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 E-mail: e.vasilevskaya@fncps.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0002-4752-3939 Асланова Мариэтта Арутюновна — кандидат технических наук, ведущий научный сотрудник, руководитель направления продуктов функционального и социального питания, отдел функционального и специализированного питания, Федеральный научный центр пищевых систем им. В. М. Горбатова 109316, Москва, ул. Талалихина, 26 Тел.: +7-495-676-95-11 (263) E-mail: m.aslanova@fncps.ru ORCID: http://orcid.org/0000-0003-2831-4864 * автор для контактов Деревицкая Ольга Константиновна — кандидат технических наук, ведущий научный сотрудник, руководитель направления технологии продуктов детского питания, отдел функционального и специализированного питания, Федеральный научный центр пищевых систем им. В. М. Горбатова 109316, Москва, ул. Талалихина, 26 Тел.: +7-495-676-95-11 (261) E-mail: o.derevickaya@mail.ru ORCID: http://orcid.org/0000-0003-1785-7994 Полищук Екатерина Константиновна — 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: https://orcid.org/0000-0003-2719-9649 Купаева Надежда Владимировна — кандидат технических наук, младший 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: +7-966-359-19-00 E-mail: n.kupaeva@fncps.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0002-1066-5589 Молдованов Геннадий Геннадьевич — инженер-исследователь, Экспериментальная клиника — лаборатория биологически активных веществ животного происхождения, Федеральный научный центр пищевых систем им. В. М. Горбатова 109316, Москва, ул. Талалихина, 26 Тел: +7-495-676-95-11 (доб.128) E-mail: g.moldovanov@fncps.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0001-7448-6451	Andrey S. Dydykin, Doctor of Technical Sciences, Docent, Chief of the Department Functional and Specialized Nutrition, V. M. Gorbатов Federal Research Center for Food Systems 26, Talalikhin str., 109316, Moscow, Russia Tel.: +7-495-676-95-11 (264) E-mail: a.didikin@fncps.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0002-0208-4792 Ekaterina R. Vasilevskaya, Candidate of Technical Sciences, Researcher, Experimental Clinic — Research Laboratory of Biologically Active Substances of an Animal Origin, V. M. Gorbатов Federal Research Center for Food Systems 26, Talalikhin str., 109316, Moscow, Russia Tel.: +7-495-676-92-11 E-mail: e.vasilevskaya@fncps.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0002-4752-3939 Marietta A. Aslanova, Candidate of Technical Sciences, Leading Researcher, Head of the Direction of the Technology of Functional and Social Nutrition Products, Department Functional and Specialized Nutrition, V. M. Gorbатов Federal Research Center for Food Systems 26, Talalikhin str., 109316, Moscow, Russia Tel: +7-495-676-95-11 (263) E-mail: m.aslanova@2fncps.ru ORCID: http://orcid.org/0000-0003-2831-4864 * corresponding author Olga K. Derevitskaya, Candidate of Technical Sciences, Leading Researcher, Head of the Baby Food Technology Department, Department Functional and Specialized Nutrition, V. M. Gorbатов Federal Research Center for Food Systems. 26, Talalikhin str., 109316, Moscow, Russia Tel: +7-495-676-95-11 (261) E-mail: o.derevickaya@mail.ru ORCID: http://orcid.org/0000-0003-1785-7994 Ekaterina K. Polishchuk, Junior Researcher, Experimental Clinic — Research Laboratory of Biologically Active Substances of an Animal Origin, V. M. Gorbатов Federal Research Center for Food Systems 26, Talalikhin str., 109316, Moscow, Russia Tel.: +7-495-676-95-11 (129) E-mail: e.politchuk@fncps.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0003-2719-9649 Nadezhda V. Kupaeva, Candidate of Technical Sciences, Junior Researcher, Experimental Clinic — Research Laboratory of Biologically Active Substances of an Animal Origin, V. M. Gorbатов Federal Research Center for Food Systems of Russian Academy of Sciences 26, Talalikhin str., 109316, Moscow, Russia Tel.: +7-966-359-19-00 E-mail: n.kupaeva@fncps.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0002-1066-5589 Gennadiy G. Moldovanov, Engineer Researcher, Experimental Clinic — Research Laboratory of Biologically Active Substances of an Animal Origin, V. M. Gorbатов Federal Research Center for Food Systems of Russian Academy of Sciences 26, Talalikhin str., 109316, Moscow, Russia Tel.: +7-495-676-95-11 (128) E-mail: g.moldovanov@fncps.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0001-7448-6451
Критерии авторства	Contribution
Авторы в равных долях имеют отношение к написанию рукописи и одинаково несут ответственность за плагиат.	The author has the sole responsibility for writing the manuscript and is responsible for plagiarism.
Конфликт интересов	Conflict of interest
Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.	The authors declare no conflict of interest.

DOI: <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2025-8-1-124-133>

Поступила 08.12.2024

Поступила после рецензирования 27.03.2025

Принята в печать 28.03.2025

© Жамсаранова С. Д., Ширеторова В. Г., Эрдынеева С. А., Тыхеев А. А., Лебедева С. Н., 2025



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

Научная статья

Open access

ОЦЕНКА АДАПТОГЕННЫХ СВОЙСТВ ФИТОЧАЯ НА ОСНОВЕ ХВОИ И МИКРОСТРОБИЛОВ СОСЕН

Жамсаранова С. Д.^{1,3*}, Ширеторова В. Г.², Эрдынеева С. А.³, Тыхеев А. А.¹, Лебедева С. Н.¹

¹ Восточно-Сибирский государственный университет технологий и управления, Улан-Удэ, Россия

² Байкальский институт природопользования СО РАН, Улан-Удэ, Россия

³ Бурятский государственный университет им. Доржи Банзарова, Улан-Удэ, Россия

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: АННОТАЦИЯ

фиточай,
иммуносупрессия,
адаптогенные
свойства,
гистоморфология,
тимус, селезенка

В научном сообществе возрастает интерес к растительным антиоксидантам как к средствам алиментарного восстановления функциональных резервов организма после физических и эмоциональных нагрузок. Цель работы — оценка адаптогенного действия фиточая, разработанного на основе побочных продуктов сосны, произрастающей на территории Бурятии. Объектом исследований явилась растительная композиция (фиточай), состоящая из чайных листьев, облепихового жмыха, микростробилов и хвои сосновой. Адаптогенные свойства фиточая изучались на модели иммуносупрессии, вызванной цитостатиком азатиоприном, вводимым экспериментальным животным ежедневно перорально. Поведенческие реакции животных оценивались в тесте «Открытое поле»; общая физическая выносливость — в тесте «Плавание до упора». Гистоморфологический анализ органов проводился с использованием стандартных методов. В состоянии иммуносупрессии, вызванной азатиоприном, у животных снижалась исследовательская активность и физическая выносливость, повышалась тревожность, уменьшалась относительная масса иммунных органов (тимуса и селезенки) и увеличивалась относительная масса органа, детоксицирующего ксенобиотики — печени. Морфометрическими исследованиями установлено, что после введения азатиоприна в тимусе и селезенке мышей отмечались значительные морфофункциональные изменения, свидетельствующие о снижении функциональной активности органов. В тимусе наблюдалось уменьшение количества и размеров тимических телец Гассала, снижение ядродержащих клеток, а в селезенке — достоверное уменьшение средней площади фолликул в 2 раза и снижение толщины герминативных центров по сравнению с таковыми в интактной группе. Введение фиточая при применении азатиоприна позволило снизить его негативное воздействие, при этом некоторые показатели структур тимуса и селезенки соответствовали значениям интактной группы. ССА фиточая составило 430,48 мг / 100 мл. Восстановление неспецифической реактивности организма экспериментальных животных, подвергнутых иммуносупрессии, по-видимому, связано с антиоксидантной активностью биологически активных веществ, входящих в состав фиточая.

ФИНАНСИРОВАНИЕ: Исследование выполнено в соответствии с грантом Российского научного фонда № 24-26-20042, <https://rscf.ru/project/24-26-20042/>

Received 08.12.2024

Accepted in revised 27.03.2025

Accepted for publication 28.03.2025

© Zhamsaranova S. D., Shiretorova V. G., Erdyneeva S. A., Tykheev A. A., Lebedeva S. N., 2025

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

Original scientific article

Open access

ASSESSMENT OF THE ADAPTOGENIC PROPERTIES OF HERBAL TEA BASED ON PINE NEEDLES AND MICROSTROBILES

Sesegma D. Zhamsaranova^{1,3*}, Valentina G. Shiretorova², Svetlana A. Erdyneeva³,
Anatoly A. Tykheev¹, Svetlana N. Lebedeva¹

¹ East Siberian State University of Technology and Management Ulan-Ude, Russia

² Baikal Institute of Nature Management Siberian branch of the Russian Academy of Sciences, Ulan-Ude, Russia

³ Banzarov Buryat State University, Ulan-Ude, Russia

KEY WORDS:

herbal tea,
immunosuppression,
adaptogetic properties,
histomorphology,
thymus, spleen

ABSTRACT

The scientific community shows an increasing interest to plant antioxidants as a means of alimentary restoration of functional reserves of the body after physical and emotional stresses. The aim of the work was to assess the adaptogenic activity of herbal tea developed on the basis of by-products of pine growing on the territory of Buryatia. The object of the research was a plant composition (herbal tea) consisted of tea leaves, sea-buckthorn press cake, pine microstrobiles and needles. Adaptogenic properties of herbal tea were studied on the model of immunosuppression caused by the cytostatic drug azathioprine administered to experimental animals every day orally. Behavioral reactions of animals were assessed in the open field test; the general physical endurance in the forced swim test with weight load. Histomorphological analysis of the organs was carried out using the standard methods. In the state of immunosuppression caused by azathioprine, the exploratory activity and physical endurance of animals decreased, anxiety increased, the relative weight of immune organs (thymus and spleen) decreased and the relative weight of the organ that detoxifies xenobiotics, liver, increased. Morphometric studies showed that after administration of azathioprine significant morphofunctional changes were observed in the thymus and spleen of mice, which suggested a decreased functional activity of the organs. A decrease in the number and size of thymic Hassal's bodies and a reduction of nucleated cells were observed in the thymus, while a significant two-fold decrease in the average area of follicles and a decrease in thickness of germinal centers were noticed in the spleen compared to those in the intact group. Introduction of herbal tea upon administration of azathioprine make it possible to alleviate its negative effect; with that, some indicators of the structures of the thymus and spleen corresponded to the values of the intact group. The summary content of

ДЛЯ ЦИТИРОВАНИЯ: Жамсаранова, С. Д., Ширеторова, В. Г., Эрдынеева, С. А., Тыхеев, А. А., Лебедева, С. Н. (2025). Оценка адаптогенных свойств фиточая на основе хвои и микростробилов сосен. *Пищевые системы*, 8(1), 124–133. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2025-8-1-124-133>

FOR CITATION: Zhamsaranova, S. D., Shiretorova, V. G., Erdyneeva, S. A., Tykheev, A. A., Lebedeva, S. N. (2025). Assessment of the adaptogenic properties of herbal tea based on pine needles and microstrobiles. *Food Systems*, 8(1), 124–133. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2025-8-1-124-133>

antioxidants in herbal tea was 430.48 mg / 100 ml. Restoration of the non-specific reactivity of the body of the experimental animals subjected to immunosuppression apparently is linked with the antioxidant activity of the biologically active substances in the composition of herbal tea.

FUNDING: The study was supported by the grant of the Russian Science Foundation No. 24-26-20042, <https://rscf.ru/project/24-26-20042/>

1. Введение

В последние десятилетия все более заметны негативные тенденции изменения окружающей среды и, соответственно, условий жизни, определяющих здоровье человека. Изменения климата, сопровождающиеся экстремальными погодными явлениями (жара, лесные пожары и др.) [1,2], факторы экологического стресса (загрязнение воздуха, шумовое загрязнение и химическое воздействие) [3,4], хронический психоэмоциональный стресс [5,6], гиподинамия, высокие физические нагрузки [7,8], неполноценное питание [9,10,11,12] — все это приводит к снижению адаптационных возможностей и функциональных резервов организма. Для повышения устойчивости организма к неблагоприятным факторам часто используют природные адаптогены, отличающиеся универсальностью и относительной безопасностью. Они повышают работоспособность и неспецифическую резистентность организма [13,14,15]. Применение растительных адаптогенов набирает популярность в пищевой промышленности, особенно в производстве напитков, из-за роста спроса на натуральные средства для снятия стресса и улучшения самочувствия [16,17]. Коррекция повседневного рациона с целью обеспечения организма эссенциальными макро- и микронутриентами имеет важное значение в профилактике возможных заболеваний [18,19].

Чай является наиболее потребляемым напитком после воды и считается важным компонентом рациона [20]. Отмечающаяся во всем мире тенденция роста потребления чая и чайных напитков с добавлением растительных компонентов обусловлена их пользой для здоровья и разнообразием вкусов [21,22]. Травяные чаи используются в качестве терапевтических средств в традиционной медицине [23]. Чай и чайные напитки на основе сосновой хвои традиционно пользуются популярностью в странах Востока, таких как Япония, Корея, Китай, а также на Дальнем Востоке России [24]. Широта распространения растений рода Сосна (*Pinus*), насчитывающего более 100 видов, содержание богатого спектра биологически активных веществ, ценные лечебные свойства обусловили их применение не только в народной медицине [25].

Нами разработан фиточай на основе побочных продуктов сосен — хвои и микростробилов сосны обыкновенной, сосны сибирской и кедрового стланика с добавлением облепихового жмыха [26]. Данное растительное сырье известно своими целебными свойствами и характеризуется богатой ресурсной базой. В состав фиточая входят следующие ингредиенты (в масс.%): хвоя сосновая (сосны сибирской или кедрового стланика) — 30, чайные листья — 30, микростробилов сосновые (сосны обыкновенной или кедрового стланика) — 20, жмых облепиховый сушеный — 20. Сосновая хвоя создает приятный вкусоароматический букет, содержит фитонциды, дубильные вещества, комплекс витаминов, макро- и микроэлементов [27]. Сосновые микростробилов (мужские шишки), заготавливаемые в мае-июне перед цветением с целью получения сосновой пыльцы (используется как лечебно-профилактическое средство и добавка в пищу) [28]. После дозревания и высыпания из них пыльцы пустые микростробилов в количестве 90–95% от массы исходного сырья направляются в отходы. Исследования показали, что отходы сосновых микростробилов богаты полифенольными соединениями, эфирными маслами, макро- и микроэлементами [29,30]. Использование в составе композиции сушеного облепихового жмыха, получаемого после отделения сока и масла из цельных ягод прессованием, способствует улучше-

нию вкусовых качеств чая и обогащению биологически активными веществами. Ягодный облепиховый жмых содержит жирные и органические кислоты, спектр витаминов (С, В1, В2, Р, РР, Е), каротиноиды, макро- и микроэлементы, а также пектиновые вещества [31]. Используемые в составе фиточая хвоя и микростробилов сосен, жмых ягод облепихи являются побочным сырьем, рациональное использование которого является актуальной задачей. Таким образом, каждый компонент разработанного фиточая характеризуется богатым комплексом биологически активных веществ, многие из которых входят в состав известных адаптогенных растений [32–34]. Отмечено, что комбинации адаптогенных растений могут оказывать специфические эффекты благодаря синергетическим взаимодействиям в организме, недостижимым ингредиентами по отдельности [14].

Целью исследования являлось изучение адаптогенных свойств фиточая, разработанного на основе побочных продуктов сосны, произрастающей на территории Бурятии.

2. Объекты и методы

Объектом исследований явилась растительная композиция (фиточай), полученная на основе запатентованной технологии и представленная следующими компонентами: чайные листья, облепиховый жмых, микростробилов сосновые, хвоя сосновая [26]. Содержание биологических веществ в фиточае представлено в Таблице 1.

По показателям безопасности фиточай соответствовал требованиям ст. 7 ТР ТС 021/2011¹, а также требованиям ГОСТ 34856-22².

Таким образом, исходя из представленных в Таблице 1 данных следует, что фиточай богат микронутриентами, обладающими широким спектром биологической активности.

Антиоксидантные свойства фиточая оценивали по суммарному содержанию антиоксидантов амперометрическим методом на хроматографе «Цвет-Яуза-01-АА» по ГОСТ 54037-2010³.

Были исследованы адаптогенные свойства фиточая. Действие полученного средства изучалось на 32 белых беспородных мышам-самцах массой 18–20 г, которых содержали в стандартных условиях вивария, при искусственном освещении, со свободным доступом к корму и воде. Поддерживали следующие параметры: смена освещения день/ночь (каждые 12 часов), температура воздуха (20–25 °С) и относительная влажность (60–70%).

Для проведения эксперимента была использована модель иммуносупрессии, вызванная цитостатиком азатиоприном, который вводили перорально (зондом) в дозе 50 мг/кг 1 раз в сутки на протяжении 5 дней. После введения цитостатика мышам опытных групп вводили фиточай 1 раз в сутки на протяжении 14 дней. Фиточай предварительно заваривали в горячей воде (6 г/100 мл воды), настаивали в течение 30 мин и вводили мышам с помощью зонда по 0,1 мл.

Схема эксперимента представлена в Таблице 2.

¹ ТР ТС 021/2011 Технический регламент Таможенного союза «О безопасности пищевой продукции» (с изменениями на 8 августа 2019 года), принятый Решением Комиссии Таможенного союза от 9 декабря 2011 года № 880.

² ГОСТ 34856-22 «Напитки чайные. Общие технические условия». М.: Росстандарт институт стандартизации, 2022. — 8 с.

³ ГОСТ 54037-2010 «Продукты пищевые. Определение содержания водорастворимых антиоксидантов амперометрическим методом в овощах, фруктах, продуктах их переработки, алкогольных и безалкогольных напитках». М.: Стандартинформ, 2019. — 11 с.

Таблица 1. Содержание БАВ в фиточае (М ± m)

Table 1. Content of biologically active substances in herbal tea (M ± m)

Наименование	Содержание мг/100 см ³ (мг/порцию — 250 мл)	Суточная норма потребления	Действие на организм человека	Источник
Эфирное масло	0,35 ± 0,06 (0,88)	—	Противовоспалительное, дезинфицирующее, антибактериальное, противовирусное	[24,25,27,35]
Аскорбиновая кислота	18,35 ± 0,03 (45,88)	75–100 мг	Иммуномодулирующее, антиоксидантное, венотоническое	[31,36]
Полифенольные соединения	12,35 ± 0,96 (30,88)	—		
Содержание флавоноидов в пересчете на рутин	89,14 ± 0,24 (222,85)	250 мг	Антиоксидантное, противовоспалительное, антиканцерогенное, нейропротективное	[25,34,37]
Содержание дубильных веществ в пересчете на танин	9,16 ± 0,87 (22,90)	—		

Таблица 2. Схема эксперимента
Table 2. Scheme of the experiment

№ групп	Наименование средства	Доза
I	Контроль	Интактные животные
II	Азатиоприн (Аз)	50мг/кг массы тела, однократно, в течение 5 дней (введение с помощью зонда)
III	Аз + Фиточай	После Аз — Фиточай (300 мг/кг), однократно, в течение 14 дней (введение с помощью зонда)
IV	Фиточай	Фиточай (300 мг/кг), однократно, в течение 14 дней (введение с помощью зонда)

Эксперименты были выполнены с соблюдением принципов гуманности в соответствии с международными морально-этическими нормами и требованиями Европейской конвенции ETS N123⁴ и Директивой 2010/63/EU⁵. Содержание животных и уход за животными осуществляли в соответствии с ГОСТ 33216–2014⁶ и Приказом МЗ РФ № 199-Н⁷.

Изучение поведенческих реакций мышей проводили в тесте «Открытое поле» на протяжении 5 минут с видеорегистрацией их передвижения [38]. Исследование осуществляли в утренние часы, последнее кормление проводили за 1 час до эксперимента. Регистрировали количество пересеченных периферических и центральных квадратов (активность горизонтальная), количество подъемов на задние конечности с упором и без упора о борт (активность вертикальная), количество дефекаций и актов груминга, а также атипичные реакции в поведении. Общая двигательная активность вычислялась по сумме стоек и двигательной горизонтальной активности. После тестирования каждого животного пол поля обрабатывали 70%-ным раствором этилового спирта.

Интегральную оценку поведения мышей проводили по методике Буслович С. Ю. и соавторов [39]. Исследовательскую активность определяли как сумму баллов за следующие показатели: латентное

⁴ Европейская конвенция о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях ETS N123 (с изменениями в соответствии с положением Протокола СЕД № 170 от 2 декабря 2005 года), принятая 18 марта 1986 года. Страсбург. — 13 с.

⁵ Директива 2010/63/EU Европейского парламента и Совета Европейского союза по охране животных, используемых в научных целях от 22 сентября 2010 года. Санкт-Петербург, 2012. — 48 с.

⁶ ГОСТ 33216-2014 «Руководство по содержанию и уходу за лабораторными животными. Правила содержания и ухода за лабораторными грызунами и кроликами. М.: Стандартинформ, 2016. — 16 с.

⁷ Приказ МЗ РФ от 01.04.2016 г. № 199-Н «Об утверждении правил надлежащей лабораторной практики». М. — 9 с.

Таблица 3. Влияние фиточая на поведение мышей в тесте «Открытое поле», Me (Q1–Q3)
Table 3. Effect of herbal tea on mouse behavior in the open field test, Me (Q1–Q3)

№ гр.	Наименование средства	Горизонтальная активность (посещение — количество)		Вертикальная активность, стойки (кол-во)	Груминг (кол-во)	Болюсы (кол-во)	Уринация
		Периферические квадраты	Центральные квадраты				
I	Контроль	157,7 (143,2–172,2)	9,0 (5,7–12,3)	1,0 (0,7–1,3)	1,0 (0,7–1,3)	1,0 (0,7–1,3)	1 на группу
II	Азатиоприн (Аз)	105,7 ^a (96,4–115,0)	1,0 ^a (0,5–1,5)	10,0 ^a (6,5–13,5)	1,3 (0,8–1,8)	2,5 ^a (2,2–2,8)	отсутствует
III	Аз + Фиточай	148,3 ^b (137,6–159,0)	1,8 ^a (1,5–2,1)	7,0 ^a (6,0–8,0)	2,3 ^a (1,6–3,0)	1,3 ^b (0,8–1,8)	отсутствует
IV	Фиточай	153,3 (135,8–170,8)	7,0 (4,3–9,7)	11,7 ^a (8,0–15,4)	1,7 ^a (1,4–2,0)	1,5 (1,0–2,0)	отсутствует

Примечание: буквами а и b обозначены статистически значимые различия по сравнению с группами 1 и 2 ($p \leq 0,05$).

Таблица 4. Влияние фиточая на исследовательскую активность и интегральную оценку тревожности экспериментальных животных (М)
Table 4. Effect of herbal tea on exploratory activity and integral assessment of anxiety of the experimental animals (M)

№ гр.	Наименование средства	Показатели	
		Исследовательская активность, усл.ед.	Интегральная оценка тревожности, усл.ед.
I	Контроль	167,7	2,83
II	Азатиоприн (Аз)	116,7	5,05
III	Аз + Фиточай	157,1	4,25
IV	Фиточай	172	3,95

время выхода из центра (минус 0,5 балла за 1 с), горизонтальную двигательную активность (1 балл за 1 сектор), вертикальные стойки (3 балла за 1 стойку без упора и 2 балла за 1 стойку с упором), выход в центр (5 баллов). Общий уровень тревожности определяли как сумму баллов за следующие показатели: короткие груминги (1 балл), количество болюсов (1,5 балла), количество актов уринации (2 балла); атипичские реакции в поведении (4 балла).

Общая физическая активность мышей была оценена в тесте «Плавание до упора» с нагрузкой (груз составлял 10% от массы тела и был прикреплен к основанию хвоста) [38]. Мыши плавали с грузом до состояния утомления, показателем которого являлось нахождение под водой более 3 с.

Взятие органов животных (тимуса, селезенки и печени) для определения весовых показателей и гистоморфологического анализа осуществляли на следующий день после последнего введения.

Относительная масса органов рассчитывалась по формуле:

$$\frac{\text{Абсолютная масса органа, г}}{\text{Масса тела, г}} \times 100\%. \tag{1}$$

После определения весовых показателей органов тимус и селезенку фиксировали в 10%-ном растворе нейтрального формалина. Гистоморфологический анализ органов осуществляли по стандартной методике; после проводки органы заливали в парафин [40]. Гистологические срезы толщиной 5–6 мкм окрашивали по Эрлиху (гематоксилином и эозином) с дальнейшим заключением в канадский бальзам. Для морфометрического анализа и сравнения состояния структуры клеток иммунных органов (тимуса и селезенки) мышей было промикрофотографировано по 50 срезов в каждой экспериментальной группе.

Экспериментальные данные обрабатывали с использованием прикладных сервисных программ Microsoft Office Excel 2019. Результаты исследования представлены в виде медианы (Me), верхнего и нижнего квартилей (Q1–Q3). Статистическую значимость различий проводили с применением непараметрического критерия Манна — Уитни. Результаты считали достоверными при достижении уровня значимости различий ($p \leq 0,05$).

3. Результаты и обсуждение

К адаптогенам относятся средства или препараты природного или искусственного происхождения, способные повышать неспецифическую сопротивляемость организма широкому спектру вредных воздействий, включая стресс. Для них также характерна способность стимулировать иммунитет.

Для оценки адаптогенных свойств разработанного фиточая использовали тест «Открытое поле». Поведенческая адаптация служит одним из важных механизмов предохранения организма от действия различных неблагоприятных факторов. Показатели двигательной и исследовательской активности животных, а также интегральная оценка тревожности приведены в Таблицах 3 и 4.

Как следует из данных Таблицы 3 и Таблицы 4, в группе животных, находящихся в состоянии иммуносупрессии, вызванной цитостатиком азатиоприном (II группа), наблюдалось снижение исследовательской активности (на 30,4%) и повышение уровня тревожности (в 1,78 раза) ($p \leq 0,05$). Введение фиточая в рацион животных (III группа) увеличивало исследовательскую активность на 34,6% и снижало уровень тревожности на 15,8% относительно действия азатиоприна (II группа), что свидетельствовало о снижении негативного влияния иммуносупрессора. Введение фиточая контрольным (интактным) животным увеличивало вертикальную активность животных (Таблица 3, IV группа), но показатели исследовательской активности и интегральной оценки тревожности находились на уровне контрольных значений. Сохранение показателей на уровне интактных животных характерно для истинных иммуномодуляторов, обладающих активностью только в условиях депрессии иммунитета.

Для оценки влияния фиточая на физическую работоспособность использовали тест плавания с дополнительной нагрузкой (с грузом 10% от массы тела). Результаты эксперимента представлены на Рисунке 1. Из Рисунка 1 следует, что цитостатик азатиоприн (II группа) снижал физическую выносливость животных на 34% относительно контрольной группы ($p \leq 0,05$). Введение фиточая в рацион животных (III группа) повышало их физическую выносливость в 2 раза относительно действия азатиоприна. При этом введение фиточая интактным животным (IV группа) не изменяло исследуемый показатель относительно контрольных животных.

Надстрочными буквами а и b указаны отклонения статистически значимые по отношению к 1 и 2 группам соответственно ($p \leq 0,05$).

Из анализа экспериментальных данных следует, что фиточай, разработанный на основе побочных продуктов кедрового стланика и сосны, проявлял адаптогенные свойства, выражающиеся в повышении неспецифической резистентности организма в условиях иммуносупрессии. По всей видимости, увеличение выносливости, исследовательской активности и снижение уровня тревожности связано с комплексным действием входящих в состав композиции ингредиентов, характеризующихся высоким содержанием биологически активных веществ, которые действуют на весь организм. Из полученных данных по содержанию БАВ (Таблица 1) следует, что разработанный фиточай отличается высоким содержанием полифенольных веществ, флавоноидов, дубильных веществ, а также аскорбиновой кислоты, которые характеризуются высокими антиоксидантными свойствами.

В водных извлечениях фиточая (1:10) было определено суммарное содержание антиоксидантов, составившее $430,48 \pm 1,62$ мг/100 мл. Таким образом, можно предположить, что адаптогенное действие полученной растительной композиции связано с антиоксидантными свойствами биологически активных веществ, входящих в ее состав. Исследованиями российских авторов установлено, что включение в рацион экспериментальных животных экстрактов черники и черной смородины, содержащих антоцианы, в суточной дозе 15 мг/кг массы тела способствует восстановлению адаптационного потенциала после тяжелой физической нагрузки. По мнению Трушиной Э. Н. и соавторов [41], эффективность антоцианов обусловлена активацией различных клеточных механизмов, поддерживающих окислительно-восстановительный потенциал внутриклеточной среды, которая лежит в основе восстановления адаптационного потенциала. Обзор современных научных данных о биологически активных добавках с антиоксидантным действием свидетельствует о перспективности их применения для эффективного восстановления физической выносливости и работоспособности после интен-

сивных физических нагрузок, а также для повышения когнитивного потенциала и для снижения эмоционального стресса [42].

Также установлено, что полифенольные соединения (ПФС), встречающиеся в растениях, представляют собой самую большую группу природных антиоксидантов, синтезирующихся для защиты клеток от окислительного стресса. В частности, особенности строения молекул флавоноидов позволяют им выступать в качестве ингибиторов свободных радикалов, гася цепные реакции свободнорадикального окисления [43].

На сегодняшний день установлены адаптогенные свойства у более сотни растений. Остается актуальным создание новых фитокарпекторов адаптационного процесса. По данным литературы, адаптогенное действие растений в значительной степени определяют фенольные соединения, среди которых наибольший интерес представляют флавоноиды, обладающие широким спектром биологических свойств, включая адаптогенные. В работе Канделинской О. Л. и соавторов [44] оценено влияние комплекса флавоноидов сои, люцерны и клевера на работоспособность крыс при экстремальной физической нагрузке с использованием тестов «Открытое поле» и «Вынужденное плавание с нагрузкой». Было установлено, что данный комплекс способствует уменьшению до 25% времени латентного периода, предшествующего адаптации к стрессовым условиям, а также повышает физическую работоспособность и выносливость до 47% [44]. Пантюхиным А. В. и соавторами [45] разработан тонизирующий напиток на основе растительных экстрактов (настоек женьшеня, аралии, элеутерококка и родиолы розовой). Исследования на лабораторных животных подтвердили возбуждающее действие напитка на центральную нервную систему, на эмоциональную и координационную активность. Кроме того, увеличивалась физическая работоспособность и повышалась адаптация к стрессу [45]. Лупановой И. А. и соавторами [46] изучена активность экстрактов из суспензионных культур женьшеня обыкновенного и родиолы розовой в условиях гипоксии в тестах «Открытое поле норкового типа» и «Вынужденного плавания с грузом». Полученные результаты также свидетельствуют об адаптогенной активности экстрактов [46]. Применение фитоадаптогенов эффективно и при метаболическом синдроме. Авторами Дзампаевой Ж. В. и др. [47] была оценена возможность коррекции и профилактики нарушений поведенческой активности крыс с метаболическим синдромом комплексным фитоадаптогеном, который состоял из родиолы розовой, солодки голой и элеутерококка колючего. Данный фитоадаптоген восстанавливал поведенческую активность крыс и снижал уровень тревожности [47].

В эксперименте была использована модель стрессовой ситуации, вызванная классическим иммунодепрессантом азатиоприном. В связи с этим было определено влияние фиточая на относительные массы органов после воздействия азатиоприна: тимуса и селезенки (органы иммунной системы), печени (обезвреживание и удаление из организма токсичных веществ) мышей. Результаты представлены в Таблице 5.

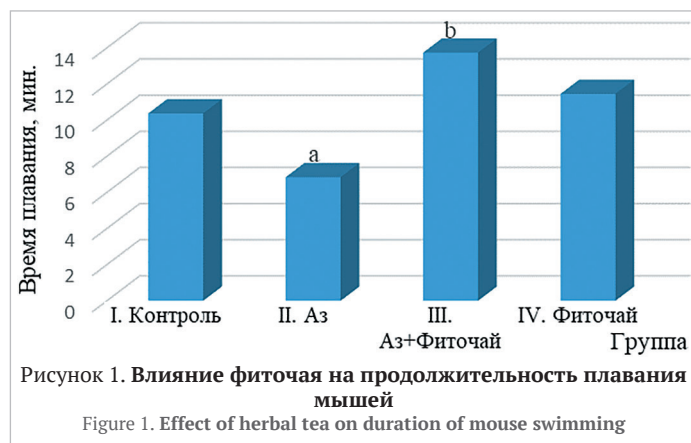
Из Таблицы 5 следует, что в состоянии иммуносупрессии наблюдалось снижение относительных масс иммунных органов (тимуса и селезенки) и увеличение относительной массы основного детоксицирующего органа — печени (II группа) ($p \leq 0,05$). Введение в рацион животных фиточая способствовало восстановлению негативного действия цитостатика и нормализовало массу данных органов (III группа). Введение фиточая (IV группа) не изменяло относительную массу органов по отношению к контрольным (интактным) животным.

Таблица 5. Влияние фиточая на относительные массы органов мышей, Me (Q1–Q3)

Table 5. Effect of herbal tea on the relative weight of mouse organs, Me (Q1–Q3)

№ гр.	Наименование средства	Относительная масса органа, %		
		тимус	селезенка	печень
I	Контроль	0,15 (0,11–0,18)	0,45 (0,42–0,48)	4,88 (4,06–5,53)
II	Азатиоприн (Аз)	0,09 ^a (0,07–0,10)	0,32 ^a (0,31–0,33)	5,74 ^a (5,54–5,94)
III	Аз + Фиточай	0,13 ^b (0,11–0,15)	0,59 ^{a,b} (0,58–0,60)	5,11 ^b (4,98–5,24)
IV	Фиточай	0,15 (0,13–0,16)	0,44 (0,32–0,46)	4,84 (4,80–4,87)

Примечание: буквами а и b указаны отклонения статистически значимые по отношению соответственно к 1 и 2 группам ($p \leq 0,05$).



Таким образом, из результатов, представленных в Таблицах 3, 4, 5 и на Рисунке 1, следует, что в состоянии иммуносупрессии, вызванной цитостатиком азатиоприном, наблюдалось снижение исследовательской активности и физической выносливости, повышение тревожности животных, снижение относительной массы иммунных органов (тимуса и селезенки) и увеличение относительной массы органа, детоксицирующего ксенобиотики (печени). Введение фиточая животным на фоне иммунодепрессии способствовало снижению негативного воздействия азатиоприна ($p \leq 0,05$).

На следующем этапе исследований была проведена оценка состояния неспецифической резистентности организма при введении фиточая на фоне иммуносупрессии, вызванной азатиоприном, с использованием гистоморфометрических методов.

Известно, что тимус представляет центральный орган иммунной системы, состоящий из двух асимметричных долей (Рисунок 2). В каждой доле поверхность органа выстлана соединительнотканной оболочкой, от которой отходят тонкие разделительные трабекулы (перегородки). Дольки тимуса сформированы из корковой (более темной) и светлой мозговой зон, составляющих структуру исследуемого органа. При микроскопии срезов тимуса видно, что граница между зонами в дольках у интактных (контрольных) животных выражена слабо (I группа). В этой зоне видны тимические тельца Гассалья, состоящие из ороговевающих эпителиальных клеток с ядродержащими клетками (Рисунок 3). При этом в интактной группе насчитывалось от 5 до 8 тимических телец в дольках, а размеры клеток Гассалья колебались от 5 до 7 мкм (Таблица 6). В срезах тимуса контрольной группы толщина корковой зоны в дольках варьировала от 21,0 до 53,0 мкм; в мозговом веществе длина составляла от 53,0 до 100 мкм, ширина — от 25,0 до 100 мкм. Результаты измерений структуры тимуса представлены в Таблице 6.

Вместе с тем соотношение мозговой и корковой зон тимуса у группы контрольных мышей варьировало в пределах 1:1,1–1:2.

При пероральном введении азатиоприна у животных II группы произошли изменения в микроструктуре тимуса; на большинстве

исследуемых препаратов отмечалось стирание границ между корковым и мозговым веществом. Как видно на Рисунке 4, после введения азатиоприна на срезах тимуса корковое вещество представлено светлой зоной и, напротив, в мозговом веществе отмечены участки с темной зоной. Данные изменения называются инверсией слоев. При гистологическом исследовании тимуса в данной группе отмечалось выраженное утолщение и разрыхление фиброзной капсулы (Таблица 6). При этом в дольке тимуса фиксировали уменьшение как количества (от 4 до 6 телец), так и размеров тимических телец (от 3 до 8 мкм) по сравнению с контрольной группой животных. На большинстве препаратов в подкапсулярной зоне выявлены фибробластические валики в результате нарушений в лимфоидной ткани, вызванных введением азатиоприна (Рисунок 4). Из данных морфометрических исследований следует, что после воздействия азатиоприна произошло увеличение длины и ширины мозгового вещества и снижение числа ядродержащих клеток тимуса (до 38 клеток) по сравнению с контрольной группой животных (Таблица 6).

По сведениям, представленным в Таблице 6, видно, что в III группе мышей, получавших фиточай на фоне иммуносупрессии, вызванной действием азатиоприна, были установлены небольшие структурные изменения в тимусе животных. При этом в органе сохранилось дольчатое строение и дифференциация на корковое и мозговое вещество (Рисунок 5). После введения фиточая на большинстве срезов тимуса мышей данной группы отмечалось незначительное снижение размеров поверхностных капсул органа относительно таковых во II группе, но несколько выше, чем у животных контрольной группы. В дольках отчетливо просматривалось корковое и мозговое вещество. За счет увеличения коркового вещества тимуса в 2,1 раза повысилась длина и ширина мозгового вещества более чем в 1,5 и 1,8 раза соответственно в сравнении со II группой мышей. При этом с установленными изменениями в архитектонике тимуса наблюдалось уменьшение количества (от 4 до 6) и размеров тимических телец до 4 мкм относительно таковых в контрольной группе. В исследуемой группе животных число ядро-

Таблица 6. Размеры структур и количество ядродержащих клеток тимуса мышей, Ме (Q1–Q3)
Table 6. Sizes of structures and the number of nucleated cells of the mouse thymus, Me (Q1–Q3)

Структура тимуса	Группы животных			
	I группа (контроль)	II группа (Азатиоприн)	III группа (Аз + Фиточай)	IV группа (Фиточай)
Толщина капсулы, мкм	4,8 (3,3–6,3)	6,5 (5,0–8,0)	5,5 (3,5–7,5)	5,6 (4,0–7,6)
Тимическое тельце, диаметр, мкм	6,5 (5,5–7,0)	5,3 ± 1,6 (3,7–6,9)	4,0 ^a (3,5–4,5)	6,5 (5,0–9,0)
Толщина коркового вещества, мкм	35,5 (21,5–49,5)	35,0 (20,0–50,0)	72,0 (47,0–97,5)	42,0 (22,0–60,0)
Мозговое вещество, длина, мкм	78,0 (58,0–93,0)	95,0 ^a (94,0–105,0)	151,0 ^{a,b} (110,0–192,0)	135,0 (75,0–195,0)
Мозговое вещество, ширина, мкм	40,0 (23,5–60,0)	45,0 (35,5–57,0)	85,0 ^{a,b} (60,5–110,0)	62,0 (37,0–87,0)
Число ядродержащих клеток на срез, кол-во	52,0 (45,0–60,0)	38,0 ^a (32,0–44,0)	50,0 (38,0–62,0)	95,0 ^a (90,0–100,0)

Примечание: буквами а и b указаны отклонения статистически значимые по отношению соответственно к 1 и 2 группам ($p \leq 0,05$).

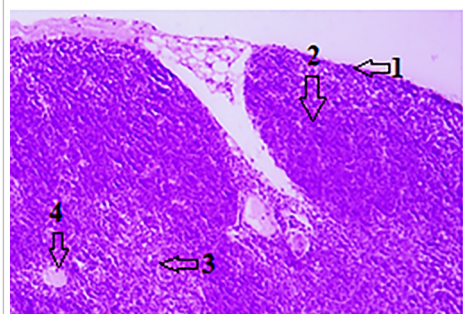


Рисунок 2. Гистосрез тимуса в I группе (контроль): 1 — капсула, 2 — корковое вещество, 3 — мозговое вещество; 4 — тельце Гассалья. Окраска гематоксилином и эозином. Ув. об. (PL10×/0,25)
Figure 2. Histological section of the thymus of the 1st group (control). 1 — capsule, 2 — cortex, 3 — medulla; 4 — Hassal's body. Staining with hematoxylin and eosin. magnification/ objective (PL10×/0.25)

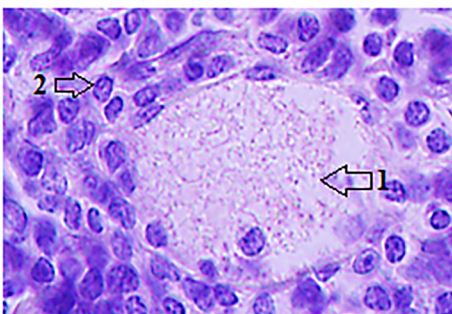


Рисунок 3. Ядродержащие клетки тимуса в I группе (контроль): 1 — Тельце Гассалья; 2 — ядродержащие клетки. Окраска гематоксилином и эозином. Ув. об. (PL100×/1,25)
Figure 3. Nucleated cells of the thymus of the 1st group (control). 1 — Hassal's body; 2 — nucleated cells. Staining with hematoxylin and eosin. magnification/ objective (PL100×/1.25)

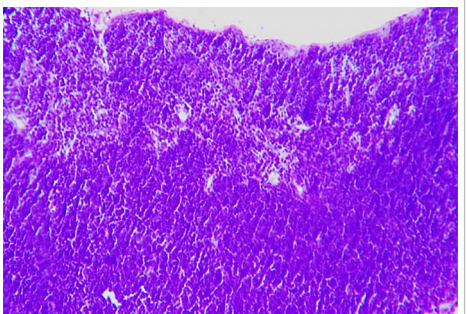


Рисунок 4. Гистосрез тимуса II группы (Азатиоприн). Разрыхление и утолщение капсулы. Окраска гематоксилином и эозином. Ув. об. (PL10×/0,25)
Figure 3. Histological section of the thymus of the 2nd group (azathioprine). Loosening and thickening of the capsule. Staining with hematoxylin and eosin. magnification/ objective (PL10×/0.25)

содержащих клеток (ЯСК) тимуса не отличалось от данного показателя в контрольной группе (Таблица 6).

После введения фиточая животным (IV группа) произошли незначительные изменения в микроанатомии структурных элементов тимуса в сравнении с контрольной группой. Здесь уместно отметить, что на некоторых срезах данный орган имел вытянутую форму, признаков повреждения лимфоидной ткани не отмечалось. При этом граница между корковым и мозговым веществом выражена так же, как и в I группе животных (Рисунок 6). По сравнению с данными в контрольной группе, количество и диаметр тимических телец были без изменений (Таблица 6). Вместе с тем в данной группе число ядро-содержащих клеток (ЯСК) тимуса увеличилось на 82% по сравнению с контрольной группой. Как видно из Таблицы 6, имеется тенденция к увеличению длины и ширины мозгового вещества данного органа по сравнению с контрольной группой животных, но эти изменения не были достоверны ($p > 0,05$) (Таблица 6).

Другим органом, участвующим в работе иммунной системы, является селезенка. В I контрольной (интактной) группе мышей в селезенке встречались первичные узелки без герминативных центров и вторичные — с центрами размножения. При проведении микроскопических исследований препаратов селезенки просматривалась паренхима органа, образованная белой и красной пульпой. Гистоморфологические исследования показали, что соотношение между вторичными и первичными лимфоидными узелками на препаратах селезенки контрольной группы мышей составило 2:1 в одном поле зрения окуляра микроскопа (Рисунок 7). В интактной группе животных белая пульпа представлена ассиметричными лимфоидными узелками (фолликулами) приблизительно равных размеров, и их диаметр варьировал от 10,0 и до 19,5 мкм, при этом показатель средней площади лимфоидных фолликул белой пульпы соответствовал 220,0 мкм² (Таблица 7). В центральной части лимфатического узелка вокруг центральных артерий располагался герминативный центр размножения, который имел более темную окраску, толщиной в среднем 6,2 мкм. Диаметр периаартериальной лимфоидной муфты (ПАЛМ) в I группе животных варьировал от 3,5 до 6,0 мкм (Таблица 7, Рисунок 7). В периферической зоне лимфоидных фолликулов

селезенки мышей различимы маргинальная и мантийная зоны. Проведенные морфометрические измерения структурных компонентов селезенки исследуемых животных представлены в Таблице 7.

После введения азатиоприна на гистологических срезах селезенки II группы мышей произошли значительные структурные изменения органа (Рисунок 8). На большинстве исследуемых препаратов отмечено увеличение лимфоидных фолликул с неправильными формами, неравномерной толщины и снижение в 2 раза площади фолликулов по сравнению с контролем (Таблица 7). Как следует из Таблицы 7, в данной группе мышей в результате достоверного уменьшения площади фолликулов отмечено существенное снижение толщины периаартериальных лимфоидных муфт и размеров герминативных центров по сравнению с таковыми в интактной группе животных ($p \leq 0,05$). Вместе с тем соотношение между вторичными и первичными лимфоидными узелками на препаратах селезенки мышей составило 1:1 в одном поле зрения окуляра микроскопа. Таким образом, введение азатиоприна выявило резкое снижение уровня активности органа с выраженной гиперплазией белой пульпы селезенки (Рисунок 8).

На срезах селезенки животных III группы, получавших фиточай на фоне иммуносупрессии, в белой пульпе видны достаточно крупные лимфоидные фолликулы как со светлыми герминативными центрами, так и без них (Рисунок 9). При этом в данной группе животных на большинстве срезов наблюдалось слияние крупных фолликулов с достоверным увеличением размеров герминативных центров по сравнению с таковыми во II группе. Также отмечалось повышение средней площади фолликулов и толщины ПАЛМ по сравнению с данными II группы, и размеры были близки к достижению соответствующих величин интактной группы (Таблица 7). Следовательно, за счет увеличения доли белой пульпы и ввиду большей выраженности их герминативных центров усиливалось образование новых лимфоидных узелков (Рисунок 9).

Введение фиточая животным IV группы не привело к значительным изменениям в микроанатомии структурных элементов селезенки по сравнению с контрольной группой. Из Рисунка 10 видно, что подавляющее большинство лимфоидных фолликул содержат герминативные центры с незначительным увеличением их

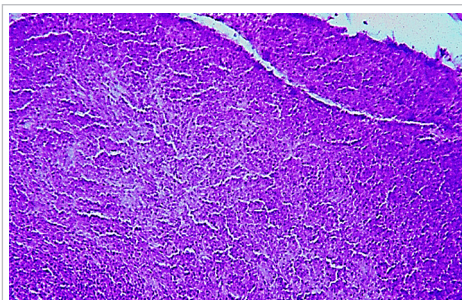


Рисунок 5. Гистосрез тимуса в III группе (азатиоприн + фиточай). Окраска гематоксилином и эозином. Ув.об. (PL10×/0,25)

Figure 5. Histological section of the thymus of the 3rd group (azathioprine + herbal tea). Staining with hematoxylin and eosin. magnification/ objective (PL10×/0.25)

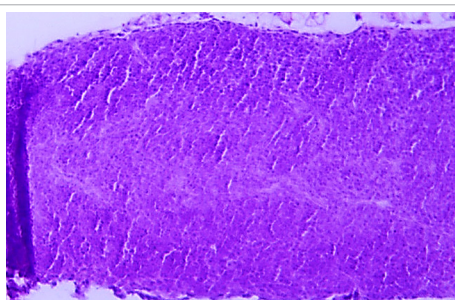


Рисунок 6. Гистосрез тимуса в IV группе (фиточай). Окраска гематоксилином и эозином. Ув. об (PL ув.об. 10×/0,25)

Figure 6. Histological section of the thymus of the 4th group (herbal tea). Staining with hematoxylin and eosin. magnification/ objective (PL10×/0.25)

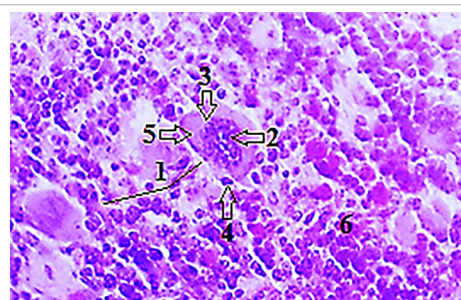


Рисунок 7. Микросрез селезенки I группы (контроль): 1 — лимфоидный фолликул; 2 — герминативный центр; 3 — мантийная зона; 4 — периаартериальная лимфоидная муфта; 5 — маргинальная зона; 6 — красная пульпа. Окраска гематоксилином и эозином. (PLув.об 40×/0,65)

Figure 7. Microsection of the spleen of the 1st group (control). 1 — lymphoid follicle; 2 — germinal center; 3 — mantle zone; 4 — periarterial lymphoid sheath; 5 — marginal zone; 6 — red pulp. Staining with hematoxylin and eosin. magnification/ objective (PL10×/0.25)

Таблица 7. Морфометрические показатели белой пульпы селезенки мышей, Ме (Q1–Q3)

Table 7. Morphometric indicators of white pulp of the mouse spleen, Me (Q1–Q3)

Структура селезенки мышей	Группы животных			
	I группа (контроль)	II группа (Азатиоприн)	III группа (Аз + Фиточай)	IV группа (Фиточай)
Средняя площадь фолликулов белой пульпы, мкм ²	220,0 (185,0–255,0)	108,0 ± 40 ^a (68,0–148,0)	160,0 (110,0–195,0)	226,0 (171,0–281,0)
Толщина периаартериальной лимфоидной муфты, мкм	4,6 (3,5–6,0)	3,0 (2,2–3,9)	4,0 (3,5–4,5)	4,5 (3,0–6,5)
Диаметр лимфоидных узелков, мкм	20,0 (15,0–19,5)	15,0 (13,5–17,0)	30,0 ^{a,b} (21,5–38,5)	17,0 (15,0–21,0)
Диаметр герминативных центров, мкм	6,2 (4,8–8,5)	3,0 ^a (2,5–4,5)	6,0 ^b (4,8–7,5)	6,5 (5,0–8,0)

Примечание: буквами а и b указаны отклонения статистически значимые по отношению соответственно к 1 и 2 группам ($p \leq 0,05$).

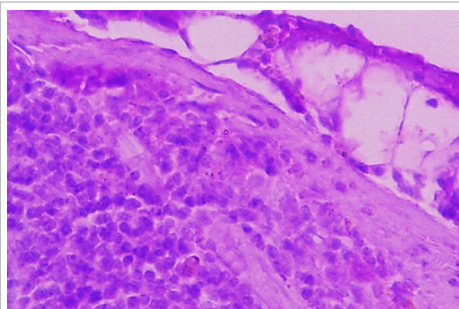


Рисунок 8. Микросрез селезенки II группы (азатиоприн). Окраска гематоксилином и эозином. (Ув.об. PL40x/0,65)

Figure 8. Microsection of the spleen of the 2nd group (azathioprine). Staining with hematoxylin and eosin. Magnification/objective (PL10x/0.25)

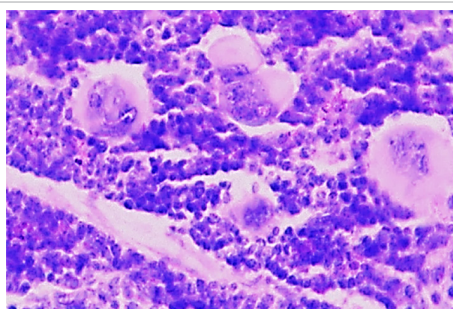


Рисунок 9. Микросрез селезенки III группы (азатиоприн + фиточай). Слияние фолликул. Окраска гематоксилином и эозином. (PLув.об. 40x/0,65)

Figure 9. Microsection of the spleen of the 3rd group (azathioprine+ herbal tea) Fusion of follicles Staining with hematoxylin and eosin. Magnification/objective (PL10x/0.25)

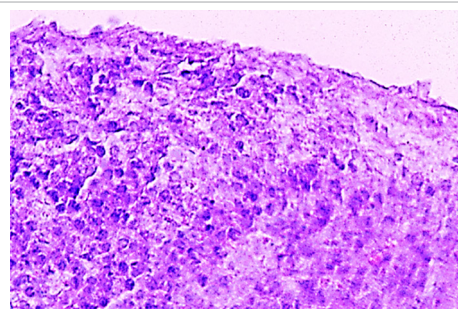


Рисунок 10. Микросрез селезенки IV группы (фиточай). Окраска гематоксилином и эозином. (PLув.об. 40x/0,65)

Figure 10. Microsection of the spleen of the 4th group (herbal tea). Staining with hematoxylin and eosin. magnification/objective (PL10x/0.25)

размеров, и при этом толщина ПАЛМ соответствует показателям контрольной группы мышей. Как видно из Таблицы 7, результаты морфометрических измерений препаратов селезенки IV группы мышей не выявили принципиальных отличий исследуемых структурных элементов органа по сравнению с контрольной группой (Таблица 7, Рисунок 10).

Таким образом, в результате проведенных исследований установлено, что после перорального введения азатиоприна в тимусе и селезенке мышей отмечались значительные морфофункциональные изменения, свидетельствующие о снижении функциональной активности исследуемых органов. В тимусе наблюдалось уменьшение количества и размеров тимических телец Гассала, снижение ядродержащих клеток, а в селезенке отмечали достоверное уменьшение средней площади фолликул в 2 раза и снижение толщины герминативных центров, по сравнению с таковыми в интактной группе животных. Об аналогичных деструктивных процессах в селезенке мышей и инволютивных изменениях в тимусе при действии иммунодепрессанта азатиоприна свидетельствуют и литературные данные [48,49]. Введение фиточая животным на фоне действия азатиоприна способствовало увеличению корково-мозгового соотношения в тимусе. А анализ срезов селезенки показал достоверное увеличение толщины фолликул в 2 раза по сравнению с таковыми во II группе животных. Из представленных выше данных видно, что некоторые показатели структурных элементов тимуса и селезенки III группы животных достигли величин интактной группы. Следует отметить, что в IV группе животных, которым вводили фиточай, произошли лишь незначительные изменения исследуемых структурных

величин исследуемых иммунных органов, т. е. фиточай проявлял свое адаптогенное действие преимущественно на фоне экстремального воздействия (цитостатика азатиоприна), что соответствует одному из формальных требований к адаптогенам.

Полученные данные согласуются с данными Пальчиковой Н. А. и соавтоов [43], которыми было изучено влияние полифенольных соединений (ПФС) из манжетки обыкновенной на организм животных, подвергнутых стрессирующим воздействиям. Водный раствор препарата ПФС в дозе 10 мг/кг массы тела в условиях воздействия низкой температуры (–10 °С) в течение 7 суток по 22 ч. ежедневно способствовал восстановлению функциональной активности лимфоидных органов, в частности, тимуса. У животных опытной группы усиливалась пролиферация при значительно менее выраженной деструкции лимфоцитов в корковом веществе тимуса [43].

Таким образом, адаптогены являются перспективной группой лекарственных средств, и изучение их биохимического потенциала имеет не только прикладной, но и фундаментальный характер, т. к. стресс-факторы являются неотъемлемой частью жизни человека [50]. Поскольку к отдельным адаптогенам может развиваться резистентность, актуальными и научно значимыми являются исследования многокомпонентных фитоадаптогенных комплексов, основанных на принципе рационального сочетания взаимодополняющих по действию биологически активных веществ. Применение нескольких адаптогенов в составе одной фитоформулы позволяет воздействовать на организм, не вызывая привыкания [51].

По данным литературы, адаптогенные препараты оказывают множество биологических эффектов [52] (Рисунок 11).

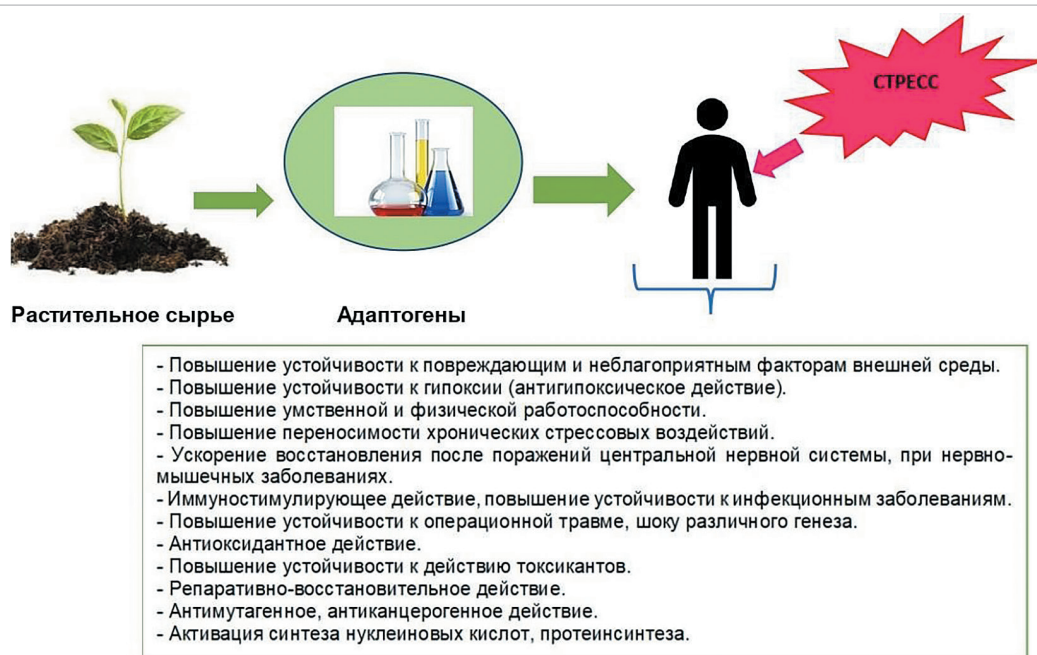


Рисунок 11. Схема действия фитоадаптогенов на организм человека

Figure 11. Scheme of action of phytoadaptogens on the human body

В вопросах изучения влияния адаптогенов растительного происхождения на организм необходимо проведение дальнейших исследований, поскольку существует большой перечень неизученных растений. Кроме того, целесообразно расширить методы исследования поведения животных и их динамики.

Молекулярно-клеточные механизмы, обеспечивающие адаптационные свойства фиточая, еще предстоит изучить. На основании сравнения результатов исследований механизмов повышения функциональных возможностей организма классическими адаптогенами и отдельными ПФС можно сделать несколько предположений. В основе их биологического действия лежит антиоксидантная активность и возможность оказывать влияние на сигнальные процессы в клетках, стабилизируя в том числе функции гипоталамо-гипофизарной системы [53,54]. Многочисленные исследования позволили обобщить роль различных медиаторов стрессовой реакции на двух уровнях метаболической регуляции с помощью адаптогенов: уровень первый — весь организм, адаптогены поддерживают гомеостаз и нейроэндокринную регуляцию гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой системы; уровень второй — клеточный, адаптогены модулируют экспрессию генов ключевых медиаторов внутриклеточных коммуникаций, участвующих в путях передачи сигналов, вызванных стрессом, включая активируемые стрессом протеинкиназы, белки теплового шока, нейропептид Y и др. [43].

4. Выводы

По результатам исследований установлено, что введение фиточая при иммуносупрессии, вызванной азатиоприном, приводило к восстановлению структуры и функции органов иммунной системы (тимуса и селезенки мышей), при этом наблюдался модулирующий эффект. Восстановление функционального состояния организма сопровождалось повышением двигательной и когнитивной активностей, снижением уровня тревожности, повышением физической выносливости экспериментальных животных. О восстановлении метаболических и физиологических функций организма свидетельствуют результаты исследований на клеточном и организменном уровнях. Восстановление неспецифической резистентности организма экспериментальных животных, подвергнутых иммуносупрессии, по-видимому, связано с антиоксидантной активностью биологически активных веществ, входящих в состав фиточая. Применение антиоксидантных БАД представляет перспективное направление для восстановления физической выносливости и работоспособности после интенсивных нагрузок, для повышения когнитивных функций и для снижения эмоционального стресса.

Антиоксидантные свойства и адаптогенная эффективность разработанной композиции фиточая открывают перспективы его широкого практического применения при разработке продукции специализированного питания.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК / REFERENCES

- Skevak, C., Nadeau, K. C., Rothenberg, M. E., Alahmad, B., Mmbaga, B. T., Masenga, G. G. et al. (2024). Impact of climate change on immune responses and barrier defense. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 153(5), 1194–1205. <https://doi.org/10.1016/j.jaci.2024.01.016>
- Rio, P., Caldarelli, M., Gasbarrini, A., Gambassi, G., Cianci, R. (2024). The impact of climate change on immunity and gut microbiota in the development of disease. *Diseases*, 12(6), Article 118. <https://doi.org/10.3390/diseases12060118>
- Adegboye, O. A., Alele, F. O., Castellanos, M. E., Pak, A., Emeto, T. I. (2023). Editorial: Environmental stressors, multi-hazards and their impact on health. *Frontiers in Public Health* 11, Article 1231955. <https://doi.org/10.3389/fpubh.2023.1231955>
- Veremchuk, L. V., Vitkina, T. I., Kondratyeva, E. V. (2024). Impact of technogenic air pollution factors on the immune system in respiratory diseases. *Siberian Journal of Life Sciences and Agriculture*, 16(2), 182–197. <https://doi.org/10.12731/2658-6649-2024-16-2-725>
- Cantuaria, M. L., Brandt, J., Blanes-Vidal, V. (2023). Exposure to multiple environmental stressors, emotional and physical well-being, and self-rated health: An analysis of relationships using latent variable structural equation modeling. *Environmental Research*, 227, Article 115770. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2023.115770>
- Seiler, A., Fagundes, C. P., Christian, L. M. (2020). The impact of everyday stressors on the immune system and health. Chapter in a book: Stress challenges and immunity in space. Springer, Cham. https://doi.org/10.1007/978-3-030-16996-1_6
- Shao, T., Verma, H. K., Pande, B., Costanzo, V., Ye, W., Cai, Y. et al. (2021). Physical activity and nutritional influence on immune function: An important strategy to improve immunity and health status. *Frontiers in Physiology*, 12, Article 751374. <https://doi.org/10.3389/fphys.2021.751374>
- Alotiby, A. (2024). Immunology of stress: A review article. *Journal of Clinical Medicine*, 13(21), Article 6394. <https://doi.org/10.3390/jcm13216394>
- Кучма, В. Р., Ткачук, Е. А., Глобенко, Н. Э. (2022). Проблемы питания современных школьников, включая детей с расстройствами психологического развития (обзор литературы). *Гигиена и санитария*, 101(11), 1372–1378. [Kuchma, V. R., Tkachuk, E. A., Globenko, N. E. (2022). Nutritional problems of modern schoolchildren, including children with developmental disabilities. *Hygiene and Sanitation*, 101(11), 1372–1378. (In Russian)] <https://doi.org/10.47470/0016-9900-2022-101-11-1372-1378>
- Munteanu, C., Schwartz, B. (2022). The relationship between nutrition and the immune system. *Frontiers in Nutrition*, 9, Article 1082500. <https://doi.org/10.3389/fnut.2022.1082500>
- Pandey, V. K., Tripathi, A., Srivastava, S., Pandey, S., Dar, A. H., Singh, R. et al. (2023). A systematic review on immunity functionalities and nutritional food recommendations to develop immunity against viral infection. *Applied Food Research*, 3(1), Article 100291. <https://doi.org/10.1016/j.afres.2023.100291>
- Morales, F., Montserrat-de la Paz, S., Leon, M. J., Rivero-Pino, F. (2024). Effects of malnutrition on the immune system and infection and the role of nutritional strategies regarding improvements in children's health status: A literature review. *Nutrients*, 16(1), Article 1. <https://doi.org/10.3390/nu16010001>
- Olennikov, D. N., Nikolaev, V. M., Chirikova, N. K. (2021). Sagan Dalya tea, a new "old" probable adaptogenic drug: Metabolic characterization and bioactivity potentials of Rhododendron adamsii Leaves. *Antioxidants*, 10(6), Article 863. <https://doi.org/10.3390/antiox10060863>
- Panossian, A. G., Efferth, T., Shikov, A. N., Pozharitskaya, O. N., Kuchta, K., Mukherjee, P. K. et al. (2021). Evolution of the adaptogenic concept from traditional use to medical systems: Pharmacology of stress- and aging-related diseases. *Medicinal Research Reviews*, 41(1), 630–703. <https://doi.org/10.1002/med.21743>
- Tóth-Mészáros, A., Garmaa, G., Hegyi, P., Bánvölgyi, A., Fenyves, B., Fehérvári, P. et al. (2023). The effect of adaptogenic plants on stress: A systematic review and meta-analysis. *Journal of Functional Foods*, 108, Article 105695. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2023.105695>
- Молибога, Е.А., Сухостав, Е.В., Козлова, О.А., Зинич, А.В. (2022). Анализ рынка функционального питания: российский и международный аспект. *Техника и технология пищевых производств*, 52(4), 775–786. [Moliboga, E. A., Sukhostav, E. V., Kozlova, O. A., Zinich, A. V. (2022). Functional food market analysis: Russian and international aspects. *Food Processing: Techniques and Technology*, 52(4), 775–786. (In Russian)]
- Martazanova, L., Maslova, A., Ulikhanov, K., Khadaeva, D., Shemshedinova, A., Abdullayeva, A. M. et al. (2023). The study of the effect of drinks based on extracts of herbal adaptogens on the functional status of athletes during physical activity. *Potravinarstvo Slovak Journal of Food Sciences*, 17, 30–42. <https://doi.org/10.5219/1804>
- Stephen, J., Manoharan, D., Radhakrishnan, M. (2023). Immune boosting functional components of natural foods and its health benefits. *Food Production, Processing and Nutrition*, 5, Article 61. <https://doi.org/10.1186/s43014-023-00178-5>
- Vignesh, A., Amal, T. C., Sarvalingam, A., Vasanth, K. (2024). A review on the influence of nutraceuticals and functional foods on health. *Food Chemistry Advances*, 5, Article 100749. <https://doi.org/10.1016/j.focha.2024.100749>
- Baruah, C., Yephthomi, Y. (2021). Development of herbal tea using *Moringa olifera*, *Elsholtzia communis* and *Alpinia galanga*: A sensory acceptance study. *International Journal of Advanced Research*, 9, 446–453. <https://doi.org/10.21474/IJAR01/13144>
- Клинтевич, В. Н., Бушкевич, Н. В., Флюрик, Е. А. (2021). Фиточай: состав, свойства, производство. *Труды БГТУ. Серия 2: Химические технологии, биотехнология, геоэкология*, 1(241), 5–23. [Klintsevich V. N., Bushkevich N. V., Flyurik E. A. (2021). Phytotea: Composition, properties, production (review). *Proceedings of BSTU, issue 2, Chemical Engineering, Biotechnologies, Geoecology*, 1(241), 5–23. (In Russian)] <https://doi.org/10.52065/2520-2669-2021-241-1-5-23>
- Ульянова, Е. В., Михайлова, И. Ю. (2024). Современные технологии в производстве напитков на основе чая. *Пиво и напитки*, 1, 23–27. [Ulyanova, E. V., Mikhailova, I. Y. (2024). Modern technologies in the production of tea-based drinks. *Beer and Beverages*, 1, 23–27. (In Russian)] <https://doi.org/10.52653/PIN.2024.01.09>
- Poswal, F. S., Russell, G., Mackonochie, M., MacLennan, E., Adukwu, E. C., Rolfe, V. (2019). Herbal teas and their health benefits: A scoping review. *Plant Foods for Human Nutrition*, 74(3), 266–276. <https://doi.org/10.1007/s11130-019-00750-w>
- Kuo, P.-C., Li, Y.-C., Kusuma, A. M., Tzen, J. T. C., Hwang, T.-L., Ye, G.-H. et al. (2021). Anti-inflammatory principles from the needles of *Pinus taiwanensis* Hayata and in silico studies of their potential anti-aging effects. *Antioxidants*, 10(4), Article 598. <https://doi.org/10.3390/antiox10040598>
- Dziedziński, M., Kobus-Cisowska, J., Stachowiak, B. (2021). *Pinus* species as prospective reserves of bioactive compounds with potential use in functional food — current state of knowledge. *Plants*, 10(7), Article 1306. <https://doi.org/10.3390/plants10071306>
- Патент РФ № 2826318. Фиточай, обладающий адаптогенными свойствами. Ширеторова В. Г., Эрдынеева С. А., Жамсаранова С. Д., Лебедева С. Н., Хантагуров А. Г., Котова, Т. И. и др. Опубл. 09.09.2024. Бюл. № 25. [Shiretorova V. G., Erdynneeva S. A., Zhamsaranova S. D., Lebedeva S. N., Khanturgaev A. G., Kotova T. I. et al. Herbal tea with adaptogenic properties. Patent RF, no. 2826318, 2024. (In Russian)]
- Nikolic, M. V., Jakovljevic, V. L., Bradic, J. V., Tomovic, M. T., Petrovic, B. P., Petrovic, A. M. (2022). Korean and Siberian Pine: Review of chemical composition and pharmacological profile. *Acta Poloniae Pharmaceutica*, 79(6), 785–797. <https://doi.org/10.32383/appdr/161040>
- Cheng, Y., Wang, Z., Quan, W., Xue, C., Qu, T., Wang, T. et al. (2023). Pine pollen: A review of its chemical composition, health effects, processing, and food applications. *Trends in Food Science and Technology*, 138, 599–614. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2023.07.004>
- Эрдынеева, С. А., Ширеторова, В. Г., Раднаева, Л. Д. (2022). Фармакогностическое исследование микростробилов *Pinus sylvestris* L. *Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии*, 25(9), 34–39. [Erdynneeva, S. A.,

- Shiretorova, V. G., Radnaeva, L. D. (2022). Pharmacognostic study of *Pinus sylvestris* L. microstrobils. *Problems of Biological, Medical and Pharmaceutical Chemistry*, 25(9), 34–39. (In Russian) <https://doi.org/10.29296/25877313-2022-09-05>
30. Ширеторова, В. Г., Эрдынеева, С. А., Раднаева, Л. Д. (2022). Элементный состав микростробиллов и почек *Pinus sylvestris*, *P. sibirica* и *P. pumila*. *Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология*, 12(4), 605–611. [Shiretorova, V. G., Erdynneeva, S. A., Radnaeva, L. D. (2022). Elemental composition of microstrobils and sprouts of *Pinus sylvestris*, *Pinus sibirica* and *Pinus pumila*. *Proceedings of Universities. Applied Chemistry and Biotechnology*, 12(4), 605–611. (In Russian)] <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2022-12-4-605-611>
 31. Chen, Y., Cai, Y., Wang, K., Wang, Y. (2023). Bioactive compounds in sea buckthorn and their efficacy in preventing and treating metabolic syndrome. *Foods*, 12, Article 1985. <https://doi.org/10.3390/foods12101985>
 32. Todorova, V., Ivanov, K., Delattre, C., Nalbantova, V., Karcheva-Bahchevanska, D., Ivanova, S. (2021). Plant adaptogens — history and future perspectives. *Nutrients*, 13(8), Article 2861. <https://doi.org/10.3390/nu13082861>
 33. Esmaealzadeh, N., Iranpanah, A., Sarris, J., Rahimi, R. (2022). A literature review of the studies concerning selected plant-derived adaptogens and their general function in body with a focus on animal studies. *Phytomedicine*, 105, Article 154354. <https://doi.org/10.1016/j.phymed.2022.154354>
 34. Gębalski, J., Małkowska, M., Graczyk, F., Słomka, A., Piskorska, E., Gawenda-Kempczyńska, D. et al. (2023). Phenolic compounds and antioxidant and anti-enzymatic activities of selected adaptogenic plants from South America, Asia, and Africa. *Molecules*, 28(16), Article 6004. <https://doi.org/10.3390/molecules28166004>
 35. Oh, Y. I., Kim, Y.-S., Kim, J. W., Kim, D. W. (2023). Antibacterial and antiviral properties of *Pinus densiflora* essential oil. *Foods*, 12(23), Article 4279. <https://doi.org/10.3390/foods12234279>
 36. Susa, F., Pisano, R. (2023). Advances in ascorbic acid (vitamin c) manufacturing: Green extraction techniques from natural sources. *Processes*, 11(11), Article 3167. <https://doi.org/10.3390/pr11113167>
 37. Bolat, E., Sarıtaş, S., Duman, H., Eker, F., Akdaşçı, E., Karav, S. et al. (2024). Polyphenols: Secondary metabolites with a biological impression. *Nutrients*, 16(15), Article 2550. <https://doi.org/10.3390/nu16152550>
 38. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Часть 1. (2012). М.: Гриф и К, 2012. [Guidance on conduction of pre-clinical trials of medical products. Part 1. (2012). Moscow: Grif and K, 2012. (In Russian)]
 39. Буслович, С. Ю., Котеленец, А. И., Фридлянд, Р. М. (1989). Интегральный метод оценки поведения белых крыс в открытом поле. *Журнал высшей нервной деятельности*, 39(1), 168–170. [Buslovich, S. Yu., Kotelents, A. I., Fridlyand, R. M. (1989). Integral method for assessing behavior of white rats in open field. *Zhurnal Vysshei Nervnoi Deyatelnosti imeni I. P. Pavlova*, 39(1), 168–170. (In Russian)]
 40. Коржевский, Д. Э., Гиляров, А. В. (2010). Основы гистологической техники. Санкт-Петербург: СпецЛит, 2010. [Korzhevskii, D. E., Gilyarov, A. V. (2010). Foundations of histological techniques. Saint Petersburg: SpecLit, 2010. (In Russian)]
 41. Трушина, Э. Н., Мустафина, О. К., Аксенов, И. В., Красуцкий, А. Г., Никитюк, Д. Б., Тутельян, В. А. (2023). Биологически активные вещества — антоцианы как фактор алиментарного восстановления адаптационного потенциала организма после интенсивной физической нагрузки в эксперименте: оценка иммунологических и гематологических показателей адаптации. *Вопросы питания*, 92(1), 6–15. [Trushina, E. N., Mustafina, O. K., Aksenov, I. V., Krasutsky, A. G., Nikityuk, D. B., Tutelyan, V. A. (2023). Bioactive compounds anthocyanins as a factor in the nutritional recovery of the body's adaptive potential after intense physical activity in the experiment: Assessment of immunological and hematological indicators of adaptation. *Problems of Nutrition*, 92(1), 6–15. (In Russian)] <https://doi.org/10.33029/0042-8833-2023-92-1-6-15>
 42. Корнякова, В. В., Бадтиева, В. А., Баландин, М. Ю. (2020). Использование биологически активных добавок с антиоксидантными свойствами при физическом утомлении и для повышения работоспособности в спорте. *Вопросы питания*, 89(3), 86–96. [Korniyakova, V. V., Badtieva, V. A., Balandin, M. Yu. (2020). Exploiting dietary supplements with antioxidant properties for enhancing physical efficiency at the state of physical fatigue in sports. *Problems of Nutrition*, 89(3), 86–96. (In Russian)] <https://doi.org/10.24411/0042-8833-2020-10032>
 43. Пальчикова, Н. А., Селятицкая, В. Г., Воевода, М. И. (2024). Адаптогенные свойства манжетки обыкновенной (*Alchemilla vulgaris* L.) (обзор литературы). *Сибирский научный медицинский журнал*, 44(3), 16–28. [Palchikova, N. A., Selyatitskaya, V. G., Voevoda, M. I. (2024). Adaptogenic properties of lady's mantle (*Alchemilla vulgaris* L.) (literature review) *Siberian Scientific Medical Journal*, 44(3), 16–28. (In Russian)] <https://doi.org/10.18699/SSMJ20240302>
 44. Канделинская, О. Л., Грищенко, Е. Р., Горещкий, Д. В., Янцевич, А. В., Огурцова, С. Э., Тумар, Е. М. и др. (2024). Эффективность применения комплекса флавоноидов сои, люцерны и клевера для повышения работоспособности крыс при экстремальных физических нагрузках. *Прикладная спортивная наука*, 1(19), 54–64. [Kandelinskaya, O. L., Grishchenko, E. R., Goretzky, D. V., Yantsevich, A. V., Ogurtsova, S. E., Tumar, E. M. et al. (2024). Effectiveness of using a complex of flavonoids soy, alfalfa and clover to increase the performance of rats during extreme physical activity. *Applied Sports Science*, 1(19), 54–64. (In Russian)]
 45. Пантюхин, А. В., Крикова, А. В., Бычкова, Т. К., Пантюхина, К. И. (2021). Разработка и исследование тонизирующего напитка на основе растительных экстрактов. *Международный научно-исследовательский журнал*, 9–2(111), 97–100. [Pantuyukhin, A. V., Krikova, A. V., Bychkova, T. K., Pantuyukhina, K. I. (2021). Development and research of a tonic drink based on plant extracts. *International Research Journal*, 9–2(111), 97–100. (In Russian)]. <https://doi.org/10.23670/IRJ.2021.9.111.051>
 46. Лупанова, И. А., Мизина, П. Г., Ферубко, Е. В., Мясникова, С. Б. (2023). Изучение фармакологической активности экстрактов из суспензионных культур женьшеня обыкновенного и родиолы розовой. *Патологическая физиология и экспериментальная терапия*, 67(2), 77–85. [Lupanova, I. A., Mizina, P. G., Ferubko, E. V., Myasnikova, S. B. (2023). Pharmacological activity of Panax ginseng and Sedum roseum cell culture extracts. *Pathological Physiology and Experimental Therapy*, 67(2), 77–85. (In Russian)] <https://doi.org/10.25557/0031-2991.2023.02.77-85>
 47. Дзампаева, Ж. В., Датиева, Ф. С., Такоева, Е. А., Нартикоева, М. И. (2024). Профилактика и коррекция нарушений поведенческой активности крыс с метаболическим синдромом комплексным фитоадаптогеном. *Acta Biomedica Scientifica*, 9(1), 233–240. [Dzampaeva, J. V., Datieva, F. S., Takoeva, E. A., Nartikoeva, M. I. (2024). Prevention and correction of behavioral disorders in rats with metabolic syndrome using a complex phytoadaptogen. *Acta Biomedica Scientifica*, 9(1), 233–240. (In Russian)] <https://doi.org/10.29413/ABS.2024-9.1.23>
 48. Цыренова, Д. З., Гуляев, С. М., Хобракова, В. Б. (2017). Влияние экстракта *Phlomis tuberosa* (L.) Moench на структуру селезенки мышей при иммуносупрессии. *Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии*, 15(1), 53–57. [Tsirenova, D. Z., Gulyaev, S. M., Khobrakova, V. B. (2017). The influence of phlomis *tuberosa* extract on structure of spleen in immunosuppressive mice. *Reviews On Clinical Pharmacology and Drug Therapy*, 15(1), 53–57. (In Russian)] <https://doi.org/10.17816/RCF15153-57>
 49. Хобракова, В. Б., Разуваева, Я. Г., Будаева, Е. Р. (2020). Коррекция экстрактом *Gentiana algida* Pall структурных изменений в тимусе при экспериментальной азатиоприновой иммуносупрессии. *Антибиотики и химиотерапия*, 65(7–8), 18–22. [Khobrakova, V. B., Razuvaeva, Y. G., Budaeva, E. R. (2020). Correction of structural changes in thymus by *Gentiana algida* pall extract at experimental azathioprine immunosuppression. *Antibiotics and Chemotherapy*, 65(7–8), 18–22. (In Russian)] <https://doi.org/10.37489/0235-2990-2020-65-7-8-18-22>
 50. Рябоконева, Л. А., Сергеева, И. Ю., Аншуков, А. В., Пермякова, Л. В. (2024). Фитоадаптогены как функциональные ингредиенты для пищевых систем (обзор). *АПК России*, 31(1), 105–118. [Ryabokoneva, L. A., Sergeeva, I. Yu., Anshukov, A. V., Permyakova, L. V. (2024). Phytoadaptogens as functional ingredients for food systems (Review). *Agro-Industrial Complex of Russia*, 31(1), 105–118. (In Russian)]. <https://doi.org/10.55934/2587-8824-2024-31-1-105-118>
 51. Бочарова, О. А., Карпова, Р. В., Бочаров, Е. В., Вершинская, А. А., Барышников, М. А., Казеев, И. В. и др. (2020). Изыскание фитоадаптогенов и возможности использования фитокомпозиций. *Российский биотерапевтический журнал*, 19(4), 35–44. [Bocharova, O. A., Karpova, R. V., Bocharov, E. V., Vershinskaya, A. A., Baryshnikov, M. A., Kazeev, I. V. et al. (2020). Research of new phytoadaptogens and possibilities of herbal formulas application. *Russian Journal of Biotherapy*, 19(4), 35–44. (In Russian)]. <https://doi.org/10.17650/1726-9784-2020-19-4-35-44>
 52. Новиков, В. С., Шустов, Е. Б., Оковитый, С. В. (2021). Методология исследования фундаментальных свойств адаптации и адаптогенной активности биологически активных веществ. *Вестник образования и развития науки Российской академии естественных наук*, 25(2), 99–114. [Novikov, V. S., Shustov, E. B., Okovityi, S. V. (2021). Methodology of studying fundamental properties of adaptation and adaptogenic activity of biologically active substances. *Herald of Education and Science Development of Russian Academy of Natural Sciences*, 25(2), 99–114. (In Russian)] <https://doi.org/10.26163/RAEN.2021.14.31.014>
 53. Todorova, V., Ivanov, K., Delattre, C., Nalbantova, V., Karcheva-Bahchevanska, D., Ivanova, S. (2021). Plant adaptogens — History and future perspectives. *Nutrients*, 13(8), Article 2861. <https://doi.org/10.3390/nu13082861>
 54. Panossian, A. G., Efferth, T., Shikov, A. N., Pozharitskaya, O. N., Kuchta, K., Mukherjee, P. K. et al. (2021). Evolution of the adaptogenic concept from traditional use to medical systems: Pharmacology of stress-and aging-related diseases. *Medicinal Research Reviews*, 41(1), 630–703. <https://doi.org/10.1002/med.21743>

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ	AUTHOR INFORMATION
Принадлежность к организации	Affiliation
Жамсаранова Сэсэгма Дашиевна — доктор биологических наук, профессор, кафедра биотехнологии, Восточно-Сибирский государственный университет технологий и управления 670013, Улан-Удэ, ул. Ключевская, 40 В Тел.: +7-924-652-28-58 E-mail: zhamsarans@mail.ru ORCID: http://orcid.org/0000-0002-0574-1575 * автор для контактов	Sesegma D. Zhamsaranova , Doctor of Biological Sciences, Professor, Department of Biotechnology, East Siberian State University of Technology and Management 40 B, Klyuchevskaya Str., 670013, Ulan-Ude, Russia Tel.: +7-924-652-28-58 E-mail: zhamsarans@mail.ru ORCID: http://orcid.org/0000-0002-0574-1575 * corresponding author
Ширеторова Валентина Германовна — кандидат технических наук, старший научный сотрудник, лаборатория химии природных систем, Байкальский институт природопользования Сибирского отделения Российской академии наук 670047, Улан-Удэ, ул. Сахьяновой, 6 Тел.: +7-902-565-02-36 E-mail: vgshiretorova@mail.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0002-3528-5101	Valentina G. Shiretorova , Candidate of Technical Sciences, Senior Researcher, Laboratory of Nature Systems Chemistry, Baikal Institute of Nature Management Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences 6, Sakhyanova str., 670047, Ulan-Ude, Russia Tel.: +7-902-565-02-36 E-mail: vgshiretorova@mail.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0002-3528-5101
Эрдынеева Светлана Аркадьевна — кандидат фармацевтических наук, доцент, кафедра фармации, Медицинский институт, Бурятский государственный университет имени Доржи Банзарова, 670000, Улан-Удэ, ул. Смолина, 24а, Тел.: +7-983-537-54-81 E-mail: esssa198013@gmail.com ORCID: https://orcid.org/0000-0002-4330-5723	Svetlana A. Erdynееva , Candidate of Pharmaceutical Sciences, Docnet, Department of Pharmacy, Medical Institute, Buryat State University named after Dorzhi Banzarov 24a, Smolin St., 670000, Ulan-Ude, Russia Tel.: +7-983-537-54-81 E-mail: esssa198013@gmail.com ORCID: https://orcid.org/0000-0002-4330-5723
Тыхеев Анатолий Александрович — кандидат ветеринарных наук, научный сотрудник, Биотехнологический центр, Восточно-Сибирский государственный университет технологий и управления 670013, Улан-Удэ, ул. Ключевская, 40 В Тел.: +7-950-390-4426 E-mail: tykheev.a@mail.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0001-5549-6144	Anatoly A. Tykheev , Candidate of Veterinary Sciences, Researcher, Biotechnology Center, East Siberian State University of Technology and Management 40 B, Klyuchevskaya Str., 670013, Ulan-Ude, Russia Tel.: +7-950-390-4426 E-mail: tykheev.a@mail.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0001-5549-6144
Лебедева Светлана Николаевна — доктор биологических наук, профессор, кафедра биотехнологии, Восточно-Сибирский государственный университет технологий и управления 670013, Улан-Удэ, ул. Ключевская, 40 В Тел.: +7-908-590-57-86 E-mail: lebedeva1959@mail.ru ORCID: http://orcid.org/0000-0001-5664-6028	Svetlana N. Lebedeva , Doctor of Biological Sciences, Professor, Department of Biotechnology, East Siberian State University of Technology and Management 40 B, Klyuchevskaya Str., 670013, Ulan-Ude, Russia Tel.: +7-908-590-57-86 E-mail: lebedeva1959@mail.ru ORCID: http://orcid.org/0000-0001-5664-6028
Критерии авторства	Contribution
Авторы в равных долях имеют отношение к написанию рукописи и одинаково несут ответственность за плагиат.	The author has the sole responsibility for writing the manuscript and is responsible for plagiarism.
Конфликт интересов	Conflict of interest
Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.	The authors declare no conflict of interest.

DOI: <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2025-8-1-134-143>

Поступила 13.12.2024

Поступила после рецензирования 31.03.2025

Принята в печать 02.04. 2025

© Глухарев А. Ю., Бордиян В. В., Кузина Т. Д., Кучина Ю. А., Деркач С. Р., 2025



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

Научная статья

Open access

ПОЛУЧЕНИЕ И ИСПОЛЬЗОВАНИЕ БЕЛКА ИЗ СТВОРОК РАКОВИН МИДИЙ В СУХОМ РЫБНОМ СОУСЕ

Глухарев А. Ю.*, Бордиян В. В., Кузина Т. Д., Кучина Ю. А., Деркач С. Р.

Мурманский арктический университет, Мурманск, Россия

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: АННОТАЦИЯ

соусы, пищевые
концентраты, мидии,
створки раковин,
конхис, белок

Целью работы являлось получение белковых ингредиентов из створок раковин мидий и изучение возможности их использования в технологии сухого соуса с учетом влияния на органолептические, физико-химические показатели и на реологические свойства. Органическая часть створки (конхис) преимущественно состоит из белковых веществ, обладающих низкой степенью растворимости в воде (14,86% при pH = 7), разбавленных растворах кислот (13,56% при pH = 3 и 13,06% при pH = 5) и щелочей (16,51% при pH = 9 и 28,48% при pH = 11). Ферментативная обработка конхиса с использованием панкреатина позволила получить гидролизат с высоким содержанием легкодоступных белковых веществ (53,19%) и со степенью гидролиза, равной 17,54%. Для изучения влияния дозировки гидролизата на свойства соуса было приготовлено четыре образца продукта (1 — с добавлением 3% гидролизата, 2—6%, 3—9%, 4—12%) и один контрольный образец. Результаты показали, что сухие соусы с добавлением гидролизата имели более высокое содержание белка (17,97; 18,21; 18,71; 19,01% в 1, 2, 3 и 4 образцах соответственно) по сравнению с контрольным образцом (17,60%). С помощью органолептической оценки определено влияние гидролизата на внешний вид, цвет, вкус и послевкусие, запах и консистенцию приготовленных соусов: самые низкие оценки (баллы) получил 4 образец соуса, а самые высокие — 1 образец. Рекомендуемая дозировка гидролизата в рецептуре соуса варьируется от 3 до 9%. Показано, что гидролизат не оказывает значительного влияния на реологические свойства приготовленных соусов. Полученные результаты свидетельствуют о возможности переработки раковин моллюсков в ценный белковый ингредиент, применимый в технологии сухих соусов.

БЛАГОДАРНОСТИ: Авторы благодарят Министерство науки и высшего образования РФ за поддержку научно-исследовательской лаборатории «Химия и технология морских биоресурсов» Мурманского арктического университета, созданной в рамках национального проекта «Наука и университеты» (FENR-2024-0001, соглашение № 075-03-2024-024/1 от 15.02.24).

Received 13.12.2024

Accepted in revised 31.03.2025

Accepted for publication 02.04.2025

© Glukharev A. Yu., Bordiyan V. V., Kuzina N. D., Kuchina Yu. A., Derkach S. R., 2025

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

Original scientific article

Open access

PRODUCTION AND USE OF MUSSEL SHELL PROTEIN IN DRY FISH SAUCE

Andrei Yu. Glukharev*, Vlada V. Bordiyan, Taisiya D. Kuzina, Yuliya A. Kuchina, Svetlana R. Derkach

Murmansk Arctic University, Murmansk, Russia

KEY WORDS:

sauses, food
concentrates, mussels,
shell valves, organic
scaffold, protein

ABSTRACT

The objective of the study was to obtain protein ingredients from mussel shell valves and to examine their potential application in the production of dry sauce with regard to the impact on organoleptic and physicochemical parameters, and rheological properties. The organic component of the shells, designated as conchix, is primarily composed of proteinaceous substances with low solubility in water (14.86% at pH 7), as well as in diluted solutions of acids (13.56% at pH 3 and 13.06% at pH 5) and alkalis (16.51% at pH 9 and 28.48% at pH 11). The enzymatic treatment of conchix with pancreatin resulted in the production of a hydrolysate with a high content of readily available protein substances (53.19%) and a degree of hydrolysis of 17.54%. Four product samples with varying proportions of hydrolysate added (1–3% of hydrolysate, 2–6%, 3–9%, and 4–12%) and a control sample were prepared to investigate the impact of hydrolysate dosage on sauce characteristics. Dry sauces with hydrolysate supplementation had higher protein concentrations (17.97%, 18.21%, 18.71%, and 19.01% in samples 1, 2, 3, and 4, respectively) than the control sample (17.60%). An organoleptic evaluation was conducted to ascertain the impact of the hydrolysate on the appearance, color, taste and aftertaste, odor and consistency of the prepared sauces. Sample 4 scored lowest, while sample 1 scored highest. The recommended dosage of hydrolysate in the sauce formulation is between 3 and 9%. The hydrolysate had no significant impact on the rheological characteristics of sauces. The obtained results indicate the possibility of processing shellfish shells into a valuable protein ingredient applicable in the technology of dry sauces.

ACKNOWLEDGEMENTS: Authors thank the Russian Ministry of Science and Higher Education for the support of the Laboratory of Chemistry and Technology of Marine Bioresources founded as part of the national project «Science and Universities» (FENR-2024-0001, agreement No. 075-03-2024-024/1 of 15.02.24).

1. Введение

В настоящее время научные сообщества и специалисты рыбной промышленности уделяют большое внимание совершенствованию методов переработки добываемых водных биоресурсов (ВБР), что главным образом обусловлено образованием большого количества побочных продуктов [1]. Они слабо задействованы в народном хозяйстве и в большинстве случаев просто утилизируются или используются в кормлении пушных зверей, сельскохозяйственных животных и птиц. В рамках реализации «Стратегии развития рыбохозяй-

ственного комплекса РФ на период до 2030 года» одной из основных задач, стоящих перед отечественной рыбоперерабатывающей промышленностью, является развитие производства продукции глубокой переработки ВБР¹. Такое развитие мало- и безотходных технологий, включающих в себя глубокое разделывание объектов водного

¹ Об утверждении Стратегии повышения качества пищевой продукции в Российской Федерации до 2030 года [Электронный ресурс]: распоряжение Правительства Российской Федерации от 29.06.2016 № 1364-р. Электронный ресурс: <https://docs.cntd.ru/document/420363999>. Дата доступа: 19.11.2024

ДЛЯ ЦИТИРОВАНИЯ: Глухарев, А. Ю., Бордиян, В. В., Кузина, Т. Д., Кучина, Ю. А., Деркач, С. Р. (2025). Получение и использование белка из створок раковин мидий в сухом рыбном соусе. *Пищевые системы*, 8(1), 134–143. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2025-8-1-134-143>

FOR CITATION: Glukharev, A. Yu., Bordiyan, V. V., Kuzina, T. D., Kuchina, Yu. A., Derkach, S. R. (2025). Production and use of mussel shell protein in dry fish sauce. *Food Systems*, 8(1), 134–143. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2025-8-1-134-143>

промысла и использование непищевых частей в качестве вторичных сырьевых ресурсов, может значительно усилить продовольственную безопасность РФ и экономику страны.

Побочные продукты, образующиеся в результате переработки ВБР, могут выступать в качестве вторичных сырьевых источников для получения продуктов с высокой добавленной стоимостью (ПВДС), обладающих рядом полезных свойств. Они используются в качестве биоматериалов, имеющих широкую область применения (медицина, антимикробные средства и средства для доставки лекарств, пищевая и косметическая промышленности [2]), а также выступают как ценные пищевые ингредиенты. В работе [3] современными методами (гомогенизацией с высоким усилием сдвига и ультразвуковой обработкой) извлекали из внутренних органов пресноводного сома (*Clarias magur*) пищевой рыбий жир с высоким содержанием полиненасыщенных жирных кислот. Белковые вещества из панцирей креветок *Vannamei* (*Litopenaeus vannamei*) использовались для получения ароматизированного порошка [4]. Авторами Kaushik и др. [5] рассмотрены возможные пути использования продуктов переработки рыбы для получения белковых гидролизатов с биоактивными свойствами. Использование таких ПВДС для обогащения химического состава пищевых продуктов массового спроса с целью корректировки рациона различных групп населения и удовлетворения потребностей в пищевых веществах, энергии, витаминах и минералах является актуальной задачей.

Моллюски, в частности мидии, относятся к одним из наиболее ценных ВБР: их мясо служит отличным источником белковых веществ, полиненасыщенных жирных кислот, витаминов и минеральных элементов, а створки — источником природного кальция. Аквакультура моллюсков активно развивается, что приводит к значительному увеличению их производства, которое по состоянию на 2018 год составило 17,5 млн тонн (около 15% от общего объема произведенной в этом году продукции) [6]. В свою очередь, створки раковин, остающиеся после переработки двусторчатых моллюсков для пищевых целей, являются большой проблемой для производителей, продавцов и потребителей моллюсков, как с практической, так и с финансовой точки зрения [7]. В зависимости от вида мидии на долю раковин может приходиться от 70 до 80% от общей массы побочных продуктов, остающихся после переработки данного организма [8,9].

Створки раковин мидий являются продуктом биоминерализации, состоящим на 95–99% из карбоната кальция (CaCO_3) и на 1–5% из органической матрицы [8,10], называемой конхис [11]. Они рассматриваются преимущественно как источник кальция [12,13], в то время как их конхис привлекает мало внимания, хотя является источником белковых веществ, гликополисахаридов, хитина, липидов и пигментов [8]. Эти вещества представляют особый научный интерес и являются ценными пищевыми ингредиентами для получения продуктов питания, а также технических, лекарственных и косметических препаратов.

Основное вещество в органической матрице раковин моллюсков представлено конхиолином. Данное вещество относится к склеропротеинам (фибрилярным белкам), которые образуют наружный слой раковины моллюсков — перистоэпидерм, а также входят в два других слоя, включающих в себя карбонат кальция: остракум и гипостракум [14,15]. В работе Zhang и др. [10] установлено, что большая часть аминокислотных остатков в составе белков конхиолинов органической матрицы раковин моллюсков приходится на аспарагиновую кислоту, глицин и серин, меньшая — на пролин и цистеин. Другими авторами [16] показано, что глицин (29%), валин (24%), лейцин (8,3%), лизин (21%) и аргинин (4,3%) составляют 87% от общего количества аминокислот в белке раковин моллюсков. Таким образом, извлечение органической матрицы из раковин мидий и изучение возможности применения ее белковых веществ в пищевых технологиях являются актуальными задачами в связи с развитием безотходных технологий и с ростом дефицита пищевого белка в мире [17].

Соусы являются важным компонентом различных видов блюд и пищевых продуктов. Они создают широкий спектр вкусовых и ароматических характеристик готового продукта, формируют определенный цвет и нежную консистенцию, улучшают внешний вид блюда, повышают его питательную ценность. Соусы могут облегчить процесс потребления твердой пищи, например, снеков [18].

Соусы имеют большую популярность, как в России, так и за рубежом [18]. За период с 2022 по 2023 гг. продажи соусов в России увеличились на 5,7%: с 1,21 до 1,28 млн тонн; а в 2024 году продажи составили 1,35 млн тонн, согласно последним данным *BusinessStat*².

Соусы подразделяются на две большие группы — горячие и холодные. Технология горячих соусов, в особенности приготовленных на бульонах (мясных или рыбных), на наш взгляд, является наиболее трудоемкой. Она состоит из ряда технологических операций: приготовления бульона; варка с декстринизированной пшеничной мукой, нарезанными и пассированными растительными ингредиентами; смешивание с пряностями, сахаром и пищевой солью; процеживание и доведение до кипения. В дополнение к этому кулинарные соусы обладают низким сроком годности (до 48 часов при температуре хранения 4 °C). Таким образом, заслуживают особого внимания пищевые концентраты кулинарных соусов быстрого приготовления, имеющие определенные преимущества по сравнению с традиционными соусами. Они представляют собой порошкообразный продукт, который состоит из ингредиентов животного и растительного происхождения с разной степенью измельчения. Сухие кулинарные соусы имеют длительный срок годности (от 6 до 12 месяцев) и готовятся в течение 1–10 мин. Помимо этого, затраты на упаковку, транспортировку и хранение сухих соусов значительно меньше. Также их можно использовать в качестве ингредиента во многих продуктах питания.

Процесс непрерывного совершенствования технологии соусов [19,20], а также обогащение их ценными нутриентами (биоактивными соединениями) позволяют создавать новые продукты, которые могут быть интересны с точки зрения улучшения здоровья человека и решения проблем, связанных с ростом ряда алиментарных заболеваний [21].

Соусы обогащали прополисом [22], экстрактами масел тмина и перца [23], что позволяло повысить пищевую ценность, а также придать продукту антиоксидантные свойства. Порошок из косточек фиников использовался в качестве источника пищевых волокон в кетчупе, что вместе с повышением пищевой ценности улучшало реологические характеристики продукта [24]. Wang и др. [25] использовали грацилярию (*Gracilaria*) для изменения вкусовых характеристик соевого соуса за счет увеличенного содержания в продукте пиразин, ненасыщенных спиртов, жирных кислот и свободных аминокислот.

Вопросы выделения эссенциальных компонентов (веществ функциональной направленности) из побочных продуктов переработки мидий и дальнейшего их использования в соусах рассматриваются недостаточно широко, имеются пробелы в этой области знаний. Таким образом, использование ПВДС из ВБР (в особенности белковых веществ из органической матрицы раковин моллюсков) в технологии сухих соусов является востребованной и актуальной задачей в рамках комплексного использования биологических ресурсов, а также повышения качественных характеристик продукта.

В этом исследовании в качестве объекта были выбраны мидии *Mytilus edulis* L., собранные на литоральной зоне Кольского залива, в ряде губ Западного и Восточного побережья Баренцева моря (Мурманская область, Россия). Они встречаются повсеместно на литорали; их биомасса достигает до 2,5 кг/м² и более. В качестве побочного продукта были использованы раковины мидий.

Предыдущими исследованиями было показано, что деминерализация раковин мидий с использованием динатриевой соли этилендиаминтетрауксусной кислоты (трилона Б) позволяет сохранить нативную структуру связующей органической матрицы и вторичную структуру ее ценных белков [26]. В данной работе была поставлена следующая цель: получить высокобелковые ингредиенты (конхис и гидролизат) из створок раковин мидий и определить возможность их использования в технологии сухого кулинарного соуса с учетом влияния на органолептические и физико-химические показатели, а также на реологические свойства готового продукта.

2. Объекты и методы

2.1. Объекты исследования

В качестве объектов исследования были выбраны створки раковин мидий, конхис из створок раковин мидий, белковый гидролизат из конхиса, соусы с использованием белкового гидролизата (сухие смеси и приготовленные).

Для получения конхиса были использованы створки раковин, полученные после разделки мидий *Mytilus edulis* L. Мидии были собраны в летний период (июнь–июль) на Мурманском Восточном (губа Терiberская) и Западном (губы Печенга, Ура) побережьях Баренцева моря (Россия) и хранились до переработки в морозильной камере в течение 2–3 месяцев при температуре минус 25 °C.

Для производства сухого соуса использовали следующие ингредиенты: муку пшеничную высший сорт, пищевой концентрат рыбного бульона, белковый гидролизат из конхиса, соль пищевую экстра, сахар-песок, лук-сушеный, чеснок-сушеный, морковь-сушеную, перец черный молотый, глутамат натрия (E621), лимонную кислоту пищевую (E330).

² Анализ рынка соусов в России в 2020–2024 гг, прогноз на 2025–2029 гг. Структура розничной торговли. М.: BusinessStat, 2025. — 90 с. Электронный ресурс: <https://businessstat.ru/>. Дата доступа: 19.11.2024.

Пищевой концентрат рыбного бульона был получен в лабораторных условиях из свежемороженого набора для ухи, изготовленного в соответствии с российским стандартом (ГОСТ 21607–2021³) и состоящего из рыбных пищевых отходов от разделки лосося и форели (плечевые и позвоночные кости с прирезами мяса, прихвостовые части и срезки мяса). Полученный пищевой концентрат рыбного бульона характеризовался следующим химическим составом: массовая доля воды — 7,91%, белка — 73,06%, жира — 1,46%, золы — 15,55%, углеводов — 2,01%.

2.2. Технологический процесс

Технологический процесс получения конхиса заключался в деминерализации створок раковин мидий в растворе Трилона Б (ООО «Энергохим», Россия) с концентрацией 174 г/дм³ и pH 7,25. Процесс подготовки сырья включал в себя: приемку и хранение живых мидий (1–2 суток) в чистой морской воде при температуре 5–7 °C, мойку, стекание, сортировку и замораживание при температуре минус 25 °C. Перед получением конхиса замороженные мидии размораживались при температуре 3–5 °C, промывались и разделялись, створки промывались, сортировались по размеру и окраске (использовались целые раковины темного цвета, длиной от 3 до 5 см). Затем створки мидии сушились при температуре 20–25 °C и направлялись на деминерализацию. Отделенные от мяса, промытые и высушенные створки помещали в стеклянную емкость с раствором Трилона Б, при этом соотношение створок к раствору составляло 1:8 (масса: объем, г: см³). В процессе деминерализации при температуре 20–25 °C раствор периодически перемешивался с использованием шейкера LS-110 (LOIP, Россия) (8 ч — перемешивание при 120–130 об/мин, 16 ч — релаксация). Каждые 24 ч створки извлекали из раствора и промывали водой. Затем процесс деминерализации продолжали с новым раствором Трилона Б. Продолжительность процесса деминерализации составляла 120 ч. Полученный конхис промывался водой и высушивался в естественных условиях при температуре 20–25 °C в течение суток.

Белковый гидролизат был получен из конхиса ферментативным способом гидролиза с использованием панкреатина (ICN Biochemicals, США)⁴. Конхис измельчали в мельнице и смешивали с водой в массовом соотношении 1:10, доводили pH реакционной среды до 8,5 ед. раствором NaOH (0,1 М) и поднимали температуру до 50 °C, вводили ферментный препарат в количестве 10 г/200 г конхиса. Гидролиз проводили в течение 5 часов при температуре 50 °C и при постоянном перемешивании. По окончании процесса реакционную смесь нагревали до температуры 85–95 °C и выдерживали в течение 5–10 мин для инактивации ферментного препарата, после чего фильтровали через бумажный фильтр. Фильтрат (очищенный раствор гидролизата) нейтрализовали до pH 6,8–7,0 ед. и замораживали при минус 25 °C, затем сушили в лиофильной сушилке BK-FD10T (BioBase, Китай) при температуре минус 60 °C и остаточном давлении 1–5 Па.

Технологический процесс получения сухих рыбных соусов включал в себя следующие операции: термическую обработку (декстринизацию) пшеничной муки в сушильном шкафу при температуре 100–110 °C до белого (слегка кремового) цвета и до влажности 8,0–9,5%; охлаждение муки (до 45 °C); подсушку сухенных овощей (до влажности 6%) и пищевой соли (до влажности 1%); приготовление пищевого концентрата рыбного бульона из рыбных пищевых отходов; измельчение и просеивание сухих ингредиентов; составление рецептурной смеси и перемешивание компонентов в течение 5 мин до однородной массы; упаковывание и маркирование. Восстановление кулинарных соусов проводили следующим образом: смешивали сухую смесь с холодной водой в массовом соотношении 1:10 и доводили ее до кипения, периодически помешивая для лучшего растворения сухих компонентов, после этого варили 1 мин на слабом огне. Далее охлаждали соус до температуры подачи — не менее 75 °C.

2.3. Методы исследования

Отбор проб для исследований осуществляли в соответствии с требованиями стандартами (ГОСТ 31339–2006⁵, ГОСТ 15113.0–77⁶).

Физико-химические показатели (массовые доли: воды, жира, общего и аминного азота, золы, хлористого натрия, хитина) исследуемых образцов определяли в соответствии с российским стандартом (ГОСТ 7636–85⁷).

Массовую долю воды в исследуемых образцах определяли методом высушивания при температуре 100–105 °C в сушильном шкафу до постоянной массы; массовую долю жира — экстракционным методом в аппарате Сокслета (с использованием диэтилового эфира, ч. д. а.); общего азота (с последующим пересчетом на белковые вещества с использованием коэффициента 6,25) — макрометодом (методом Кьельдаля); аминного азота — методом формольного титрования; золы — методом сжигания навески образца в муфельной печи при 550 ± 10 °C; хлористого натрия — аргентометрическим методом; хитина — методом выделения частиц хитина и определения в них азота макрометодом.

Фотографии поверхностного слоя деминерализованных створок раковин мидий (конхиса) получали методом оптической микроскопии с использованием светового оптического микроскопа Olympus CX43 (Olympus Corporation, Япония) с фотонасадкой при увеличении 4×.

Содержание тяжелых металлов и мышьяка определяли методом масс-спектрометрии с индуктивно-связанной плазмой. Измерения проводили на масс-спектрометре ELAN9000 DRC-e (Perkin Elmer, США) с индуктивно-связанной аргонной плазмой с замкнутой системой охлаждения. Введение образца осуществлялось с помощью перистальтического насоса и пробоподатчика AS-93⁺.

Выход исходного сырья (створок раковин мидий) и продуктов (конхиса и белкового гидролизата) рассчитывали по формуле, % (1):

$$\text{Выход} = \frac{m}{M} \cdot 100, \quad (1)$$

где m — масса створок раковин мидий, конхиса или белкового гидролизата, г; M — масса мидий (размороженных), створок или конхиса, г.

Степень гидролиза (СГ) рассчитывали по формуле, % (2):

$$\text{СГ} = \frac{AA}{OA} \cdot 100, \quad (2)$$

где AA, OA — массовые доли аминного и общего азота, %.

Массовую долю углеводов (У) рассчитывали по формуле, % (3):

$$U = 100 - (B + B + Ж + З), \quad (3)$$

где В, Б, Ж, З — массовые доли воды, белка, жира и золы в продукте соответственно, %.

Определение растворимости в растворах с различной кислотностью (pH) и перевариваемость определяли по стандартным методам (ГОСТ 7636–85⁷, ГОСТ Р 55987–2014⁸).

Структурно-механические показатели (сжатие и липкость) исследовались на текстурометре FRTS-50N (IMADA CO., LTD, Япония). Показатели «сжатие» и «липкость» определяли с использованием дискового индентора FR FR-NA-20J (IMADA CO., LTD, Япония). При определении показателя «сжатие» индентор погружался в испытуемый образец на глубину 5 мм с постоянной скоростью (2 мм/сек), при этом датчиком сопротивления фиксировалась максимальная нагрузка. При определении показателя «липкость» индентор погружался в испытуемый образец с постоянной скоростью (1 мм/сек) и по достижению усилия в 0,1 Н он прекращал погружение и начинал подниматься, при этом фиксировалась нагрузка (усилие отрыва), которую индентор затрачивает на возвращение в исходное положение. Измерения проводились в стандартных условиях. Температура изучаемых образцов в момент измерения составляла 25 °C.

Реологические свойства объектов изучались на реометре Physica MCR302 (Anton Paar, Австрия) с использованием измерительной ячейки «конус-плоскость» CP50–1 (диаметр плоскости — 50 мм, угол между конусом и пластиной — 1°). Перед проведением анализа приготовленные образцы соусов с температурой 65–75 °C пропускали через металлическое сито с размером ячеек 100 мкм для удаления различных включений (овощных компонентов, комочков и др.), после чего охлаждали до температуры измерений $T = 20 \pm 0,03$ °C, поддерживаемой постоянной при помощи элемента Пельтье P-PTD200/GL. Кривые течения соусов получали в режиме установившегося течения при скоростях сдвига в диапазоне 1–100 с^{–1}. Амплитудные и частотные зависимости динамических модулей (сохранения и потерь) измеряли

³ ГОСТ 21607–2021. «Наборы из рыбы для ухи мороженые. Технические условия». М.: Стандартинформ, 2021. — 13 с.

⁴ Оптимальные условия для работы ферментного препарата, согласно паспортным данным: температура 45–50 °C и pH 7,8–8,5.

⁵ ГОСТ 31339–2006. «Рыба, нерыбные объекты и продукция из них. Правила приемки и методы отбора проб». М.: Стандартинформ, 2010. — 4 с.

⁶ ГОСТ 15113.0–77. «Концентраты пищевые. Правила приемки, отбор и подготовка проб». М.: ИПК Издательство стандартов, 2003. — 6 с.

⁷ ГОСТ 7636–85. «Рыба, морские млекопитающие, морские беспозвоночные и продукты их переработки. Методы анализа». М.: Стандартинформ, 2010. — 123 с.

⁸ ГОСТ Р 55987–2014. «Корма, комбикормовое сырье. Метод определения переваримости муки из гидролизованного пера in vitro». М.: Стандартинформ, 2020. — 8 с.

в режиме колебательных испытаний: при постоянной угловой частоте $\omega = 6,28$ рад/с в диапазоне значений амплитуды деформации от 0,01 до 100%; при постоянной амплитуде деформации $\gamma = 0,05\%$, соответствующей области линейной вязкоупругости, в диапазоне частот 1–100 с⁻¹. Относительная погрешность прибора составляла не более 10%.

Фотофиксацию образцов осуществляли с использованием камеры смартфона (Apple, США). Образцы помещались на лист фильтровальной бумаги, фотосъемка производилась под прямым углом к плоскости фотографируемого объекта с использованием искусственного освещения (холодный белый свет). Расстояние от камеры до объекта находилось в пределах от 10 до 15 см.

Органолептическая оценка проводилась в соответствии с требованиями межгосударственного стандарта (ГОСТ 15113.3–77⁹) с использованием балльной шкалы. Дегустацию восстановленных соусов проводили при температуре образцов 65–75 °С.

Экспериментальные работы были выполнены на базе научно-исследовательской лаборатории «Химия и технологии морских биоресурсов» Мурманского арктического университета. Определение содержания тяжелых металлов и мышьяка проводили в Институте химии и технологии редких элементов и минерального сырья им. И. В. Тананаева — обособленное подразделение ФГБУН Федерального исследовательского центра «Кольский научный центр Российской академии наук» (ИХТРЭМС КНЦ РАН).

Все эксперименты проводились в трехкратной повторности. Результаты выражали в виде среднего арифметического значения и стандартного отклонения. Доверительная вероятность была установлена на уровне $P \geq 0,95$. Для статистической обработки экспериментальных данных использовали однофакторный дисперсионный анализ (ANOVA). Различия между средними значениями считались значимыми при вероятности $P \leq 0,05$. Статистический анализ проводили с использованием программы Microsoft Office Excel 2021.

3. Результаты и обсуждение

Мидии являются известными фильтрующими сестонофагами. Находясь в неблагоприятной окружающей среде, они способны снижать уровень загрязнения прибрежных вод от природных токсинов, а также от тяжелых металлов и от других токсичных веществ, при этом накапливая их в своем теле и створках [27]. Целенаправленная деминерализация створок мидии позволяет удалить из них значительную часть минеральных веществ [26], в том числе и нежелательных микроэлементов (ртуть, свинец, кадмий и др.).

В связи с тем, что мидии были собраны в естественной среде обитания, необходимым условием для использования их створок с целью переработки и получения пищевой продукции была оценка безопасности. Для оценки безопасности используемых створок раковин моллюсков и полученного в результате деминерализации конхиса был проведен анализ содержания в них токсичных элементов: тяжелых металлов и мышьяка. Результаты исследований представлены в Таблице 1.

Из данных Таблицы 1 следует, что содержание тяжелых металлов и мышьяка в створках мидий, собранных на Мурманском побережье Баренцева моря (Россия), и в конхисе не превышает предельно допустимые уровни, установленные в Техническом регламенте Таможен-

Таблица 1. Содержание тяжелых металлов и мышьяка в створках раковин мидий и конхисе

Table 1. Heavy metal and arsenic content in mussel shell valves and conchix

Элемент	Содержание элементов, мг/кг				
	ПДУ	Створки раковин мидий			Конхис из створок раковин мидий
		Место сбора моллюсков			
		губа Териберская	губа Печенга	губа Ура	
Ртуть (Hg)	0,2	менее 0,10	менее 0,10	менее 0,10	менее 0,10
Кадмий (Cd)	2,0	менее 0,10	менее 0,10	менее 0,10	менее 0,10
Свинец (Pb)*	10,0	0,11 ± 0,01	0,27 ± 0,03	0,44 ± 0,04	менее 0,10
Мышьяк (As)*	5,0	0,38 ± 0,02	2,53 ± 0,05	2,07 ± 0,06	0,29 ± 0,02

Примечание: предельно допустимые уровни (ПДУ) указаны согласно ТР ТС 021/2011. Данные представляют собой средние арифметические значения ± стандартное отклонение от среднего арифметического значения для группы $n = 3$ при доверительной вероятности $P \geq 0,95$. Средние значения в строках не имеют значимых различий, кроме строк со значком «*» ($P < 0,05$).

ного союза «О безопасности пищевой продукции» (ТР ТС 021/2011)¹⁰. Таким образом, данные показатели безопасности соответствуют требованиям, предъявляемым к сырью, используемому для производства пищевой продукции.

После подтверждения безопасности используемого сырья были изучены свойства деминерализованных створок — конхиса. Деминерализация приводила к изменению в структуре и цвете створки раковины мидии (Рисунок 1).

Как видно из Рисунка 1, первоначально исходная поверхность створки была выпуклой, цвет черный, а после проведения деминерализации она стала плоской, цвет желто-коричневый, при этом размер практически не отличался от исходной створки. Конхис не обладал выраженным запахом и быстро восстанавливался в воде, имел хорошую эластичность. Этот органический матрикс, остающийся после деминерализации, в основном состоит из сложных белков конхиолинов. Окрашивание раствором кумасси это подтвердило: в конхисе преобладают белковые вещества, поэтому вся его структура окрасилась в синий цвет, при этом интенсивность окрашивания зависела от толщины слоя. В работе Ehrlich и др. [11], посвященной деминерализации раковин моллюсков (*P. nobilis*, *L. elliptica*, *M. galloprovincialis*, *H. tuberculata* и др.), наблюдались аналогичные результаты.

Белковые вещества конхиса (конхиолины) относятся к склеропотеинам — белкам, не растворимым в воде и в разбавленных растворах солей, кислот и щелочей. Также эти белки в нативном состоянии не подвергаются расщеплению протеолитическими ферментами [28]. На Рисунке 2 представлена растворимость конхиса в растворах с различной кислотностью. Было отмечено, что растворимость конхиса увеличивается в щелочной среде: 16,5% при pH 9,0 и 28,5% при pH 11. Самая низкая растворимость (13,1%) зафиксирована в районе pH изoelectricной точки белка — при pH 5 [1].

Далее для оценки степени перевариваемости конхиса были смоделированы условия пищеварительного тракта (*in vitro*). Степень перевариваемости характеризуется скоростью атакваемости белков

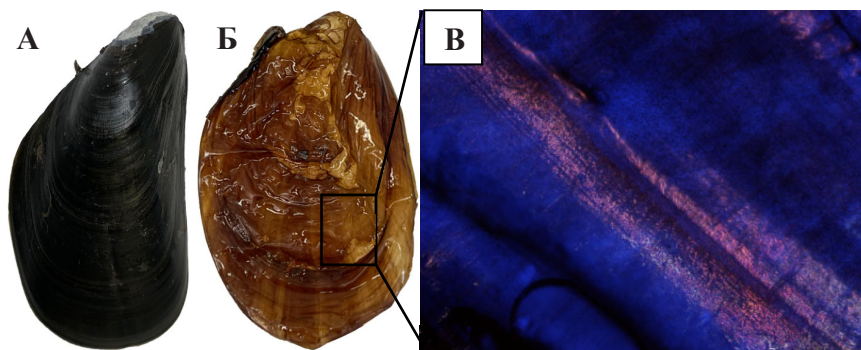
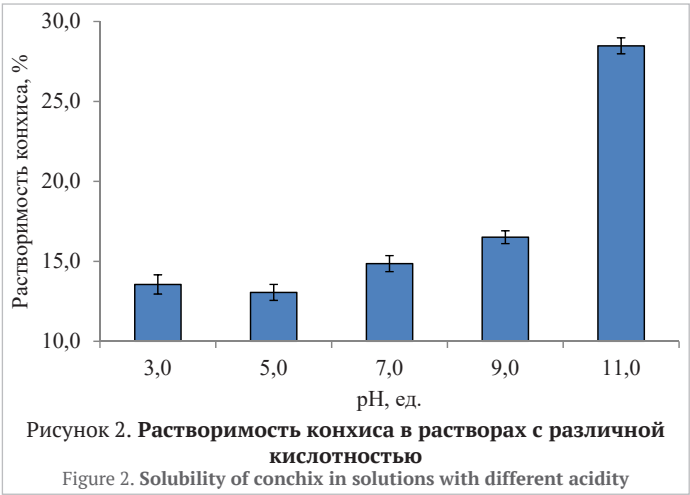


Рисунок 1. Внешний вид створки раковины мидии до (А) и после деминерализации (Б); оптическое изображение конхиса (В), окрашенного раствором кумасси, полученное с увеличением 4×

Figure 1. Appearance of mussel shell valves before (A) and after (B) demineralization; optical image of conchix (B) stained with Coomassie solution, obtained with 4× magnification

⁹ ГОСТ 15113.3–77. «Концентраты пищевые. Методы определения органолептических показателей, готовности концентратов к употреблению и оценки дисперсности суспензии». М.: ИПК Издательство стандартов, 2003. — 2 с.

¹⁰ ТР ТС 021/2011 Технический регламент Таможенного союза «О безопасности пищевой продукции» (с изменениями на 8 августа 2019 года), принятый Решением Комиссии Таможенного союза от 9 декабря 2011 года № 880.



продукта ферментами желудочно-кишечного тракта. В эксперименте с использованием пепсина конхис показал перевариваемость ниже среднего — 41,9%.

Таким образом, конхис представляет собой перспективное сырье для разработки на его основе высокобелковых продуктов и соответствующих добавок, однако при этом в естественной форме он обладает низкой растворимостью и степенью перевариваемости. Полученные результаты свидетельствуют о том, что необходимо провести гидролиз конхиса для получения растворимых пептидов с лучшей функциональностью, которые можно будет использовать в производстве продуктов питания [29,30].

Предварительными экспериментами определено, что наиболее предпочтительным является ферментативный гидролиз конхиса с использованием ферментного средства животного происхождения — панкреатина. На Рисунке 3 представлен внешний вид белкового гидролизата, полученного из конхиса с использованием панкреатина, в сравнении с исходным сырьем (створками и конхисом). Гидролизат представлял собой порошок с включениями небольших хлопьев кофейного цвета с запахом, свойственным гидролизатам, без постороннего аромата. Гидролизат в виде 1% раствора обладал вкусом, свойственным гидролизованному белку, без привкуса горечи.

Был изучен химический состав и определен выход створок раковин мидий, конхиса из створок мидий и белкового гидролизата из конхиса (Таблица 2).

В Таблице 2 видно, что створки заняли чуть больше половины от массы целой мидии, их выход составил 55,3%. Створки характеризуются высоким содержанием золы — 95,5%, которое после проведения деминерализации существенно снижается. Удаление из створок значительного количества минеральных веществ приводит к получению органической матрицы (биополимера), состоящей на 87,5% из белков, а также включающей в себя небольшое количество хитина (2,7%) и остатки минеральных веществ — золы (3,0%). Обработка (гидролиз) конхиса панкреатином позволила получить продукт, который отличается высоким содержанием легкодоступных белковых веществ (53,2%) со степенью гидролиза 17,5%. Образование хлористого натрия (28,8%) в гидролизате связано с технологическими условиями получения данного продукта: после доведения pH водной фазы до оптимальных значений для эффективной работы ферментного препарата (7,9–8,5 ед.) следует стадия нейтрализации очищенного раствора гидролизата (до pH 6,8–7,0 ед.), при которой выделяется хлорид натрия. Выход конхиса составил 4,3%, белкового

гидролизата — 33,7%. Полученный гидролизат белка представляет особую ценность для разработки обогащенных пищевых продуктов и кормовых добавок с учетом лечебно-профилактических и функциональных свойств биологически-активных пептидов, входящих в состав гидролизатов из мидий [30].

Следующий этап исследования был посвящен разработке сухих рыбных кулинарных соусов. В Таблице 3 представлены рецептуры для приготовления образцов соусов с различными дозировками белкового гидролизата из конхиса (от 3 до 12%) и без него. Гидролизат белка вводили в рецептуру продукта вместо пищевого концентрата рыбного бульона, также было скорректировано количество пищевой соли в рецептуре с учетом ее содержания в гидролизате.

Таблица 2. Химический состав и выход створок раковин мидий, конхиса из створок раковин мидий и белкового гидролизата из конхиса

Table 2. Chemical composition and yield of mussel shell valves, conchix from mussel shell valves and protein hydrolysate from conchix

Показатель	Створки раковин мидий	Конхис из створок раковин мидий	Белковый гидролизат из конхиса
Массовые доли, %:			
— воды*	менее 1	8,63±0,13	7,50±0,07
— общего азота (ОА)*	0,49±0,03	14,00±0,03	8,51±0,03
— аминного азота (АА)	—	—	1,49±0,09
— белка (ОА·6,25)*	3,08±0,18	87,53±0,20	53,19±0,16
— золы*	95,46±0,01	2,97±0,01	39,22±0,01
— хлористого натрия	—	—	28,84±0,20
— жира	менее 1	менее 1	—
— хитина*	менее 1	2,74±0,04	—
Выход, %*	55,25±2,51	4,26±0,97	33,68±1,35

Примечание: выход определен расчетным методом по формуле (1). Данные представляют собой средние арифметические значения ± стандартное отклонение от среднего арифметического значения для группы n = 3 при доверительной вероятности P>0,95. Средние значения в строках не имеют значимых различий, кроме строк со значком «*» (P<0,05).

Таблица 3. Рецептурный состав для приготовления сухих рыбных кулинарных соусов

Table 3. Recipe for making dry fish culinary sauces

Ингредиент	Количество белкового гидролизата в рецептуре соуса, %				
	0	3	6	9	12
	Дозировка ингредиентов, г/100 г продукта				
Мука пшеничная высший сорт	68,00	68,00	68,00	68,00	68,00
Пищевой концентрат рыбного бульона	12,00	10,00	8,00	6,00	4,00
Белковый гидролизат из конхиса	—	3,00	6,00	9,00	12,00
Соль пищевая экстра	8,00	7,00	6,00	5,00	4,00
Сахар-песок	3,00	3,00	3,00	3,00	3,00
Лук-сушеный молотый	4,50	4,50	4,50	4,50	4,50
Чеснок-сушеный молотый	1,50	1,50	1,50	1,50	1,50
Морковь-сушеная молотая	2,00	2,00	2,00	2,00	2,00
Перец черный молотый	0,30	0,30	0,30	0,30	0,30
Глутамат натрия (Е621)	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50
Лимонная кислота пищевая (Е330)	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20

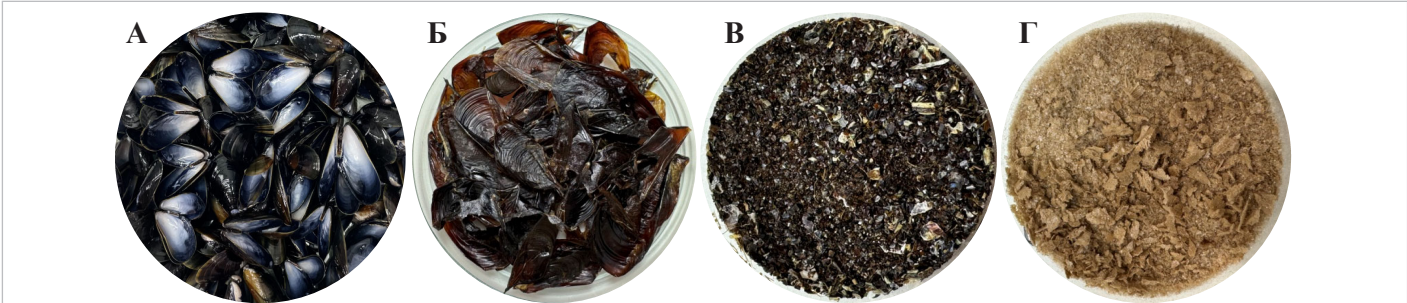


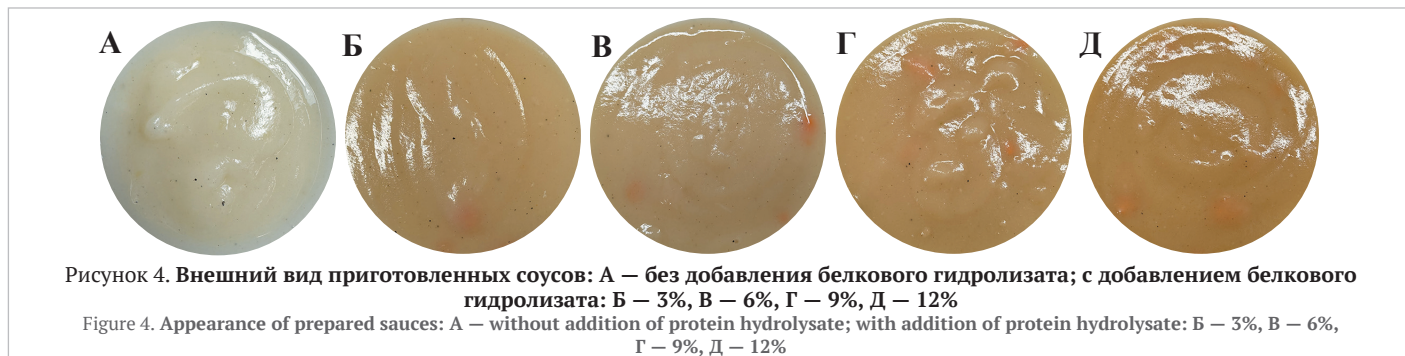
Рисунок 3. Внешний вид створок раковин мидий (А), конхиса целого (Б) и измельченного (В), белкового гидролизата из конхиса (Г)

Figure 3. Appearance of mussel shell valves (A), whole (B) and crushed (B) conchix, protein hydrolysate from conchix (Г)

Таблица 4. Химический состав сухих рыбных кулинарных соусов
Table 4. Chemical composition of dry fish culinary sauces

Показатель	Количество белкового гидролизата в рецептуре соуса, %				
	0	3	6	9	12
Массовые доли:					
— воды, %*	8,65±0,10	8,78±0,05	8,95±0,12	8,35±0,09	8,72±0,04
— белка, %*	17,59±0,12	17,97±0,15	18,21±0,18	18,71±0,20	19,01±0,16
— жира, %	0,75±0,06	0,73±0,05	0,71±0,08	0,69±0,09	0,73±0,01
— золы, %*	10,49±0,01	10,25±0,01	9,86±0,01	9,48±0,01	9,22±0,01
— углеводов, %	62,52	62,27	62,27	62,77	62,32

Примечание: массовая доля углеводов определена расчетным методом по формуле (3). Данные представляют собой средние арифметические значения ± стандартное отклонение от среднего арифметического значения для группы $n = 3$ при доверительной вероятности $P \geq 0,95$. Средние значения в строках не имеют значимых различий, кроме строк со значком «*» ($P < 0,05$).



Был изучен химический состав сухих рыбных кулинарных соусов, полученные результаты представлены в Таблице 4. Отмечено, что увеличение дозировки белкового гидролизата в рецептуре соусов приводит к небольшому увеличению массовой доли белка с 17,6% до 19,01% и к снижению массовой доли золы с 10,49% до 9,22% в продукте. Содержание воды, жира, углеводов в образцах соуса с различной дозировкой гидролизата остается на одном уровне.

Было приготовлено 5 образцов соусов по рецептурам, представленным в Таблице 3: 1 — контроль, без добавления белкового гидролизата, 2 — с введением 3% гидролизата к массе смеси, 3 — с введением 6% гидролизата, 4 — с введением 9% гидролизата, 5 — с введением 12% гидролизата. Также были проведены исследования органолептических показателей и реологических свойств готового продукта.

На Рисунке 4 представлен внешний вид приготовленных соусов. Соусы представляют собой однородную густую массу с вкраплениями овощных компонентов. С увеличением дозировки белкового гидролизата в рецептуре продукта наблюдается изменение цвета образцов соуса от светло-кремового до желто-коричневого. На цвет конечного продукта могут влиять различные факторы. Предполагается, что такие изменения цвета могут быть обусловлены тем, что в створках раковин мидии содержатся природные пигменты, относящиеся к группе каротиноидов [31], которые в результате переработки исходного сырья перешли в гидролизат.

Добавление различных концентраций белкового гидролизата в рецептуру соуса оказывает влияние как на состав готового продукта, так и на его органолептические показатели. При этом некоторые гидролизаты обладают горьким вкусом из-за наличия в их составе специфических пептидов [32]. Поэтому весьма важным требованием является изучение органолептических показателей соуса в зависимости от его состава.

Результаты органолептической оценки приготовленных соусов представлены на Рисунке 5. Определено, что дозировка гидролизата в количестве от 3% до 9% не оказывает негативного влияния на вкус и послевкусие, на запах, а также на консистенцию образцов соусов. При этом установлено прямое влияние добавления гидролизата на цвет соусов, что было отмечено дегустаторами. Несмотря на незначительное снижение некоторых органолептических показателей, отме-

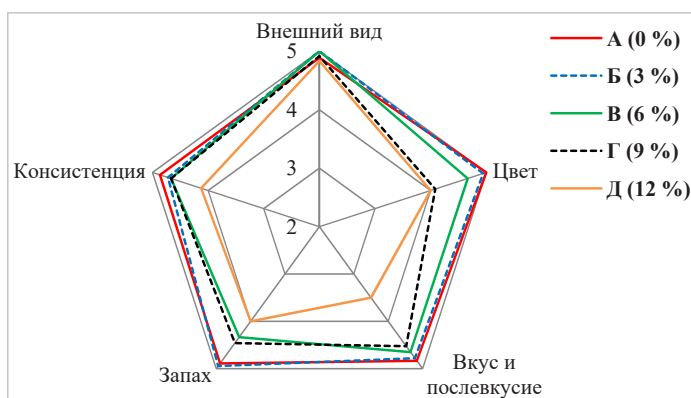


Рисунок 5. Результаты органолептической оценки приготовленных соусов: А — без добавления белкового гидролизата; с добавлением белкового гидролизата: Б — 3%, В — 6%, Г — 9%, Д — 12%

Figure 5. Results of organoleptic evaluation of prepared sauces: А — without addition of protein hydrolysate; with addition of protein hydrolysate: Б — 3%, В — 6%, Г — 9%, Д — 12%

чаются достаточно высокие значения оценок — не ниже 4,1 (82%). Самые низкие оценки получил образец с введением 12% гидролизата. Таким образом, максимально рекомендуемая дозировка гидролизата в рецептуре продукта может составлять 9%, а минимальная — 3%.

Изучение реологических свойств соусов играет важную роль в понимании того, как влияют пищевые ингредиенты, сырье и технологические параметры их обработки на структуру готового продукта и на его качественные характеристики.

На следующем этапе исследования была проведена оценка структурно-механических свойств образцов соусов с использованием текстурометра. Было установлено, что белковый гидролизат, используемый в рецептуре продукта в дозировке 3–12%, не оказывает существенного влияния на изменение структурно-механических показателей приготовленных соусов (Таблица 5). Результаты

Таблица 5. Результаты изучения структурно-механических показателей приготовленных кулинарных соусов
Table 5. Results of the study of structural and mechanical properties of prepared culinary sauces

Показатель	Количество белкового гидролизата в рецептуре соуса, %				
	0	3	6	9	12
Сжатие, Н	0,10±0,01	0,11±0,01	0,10±0,01	0,11±0,01	0,11±0,01
Липкость, Н	−0,05±0,01	−0,05±0,01	−0,06±0,01	−0,06±0,01	−0,06±0,01

Примечание: данные представляют собой средние арифметические значения ± стандартное отклонение от среднего арифметического значения для группы $n = 3$ при доверительной вероятности $P \geq 0,95$. Средние значения в строках не имеют значимых различий ($P < 0,05$).

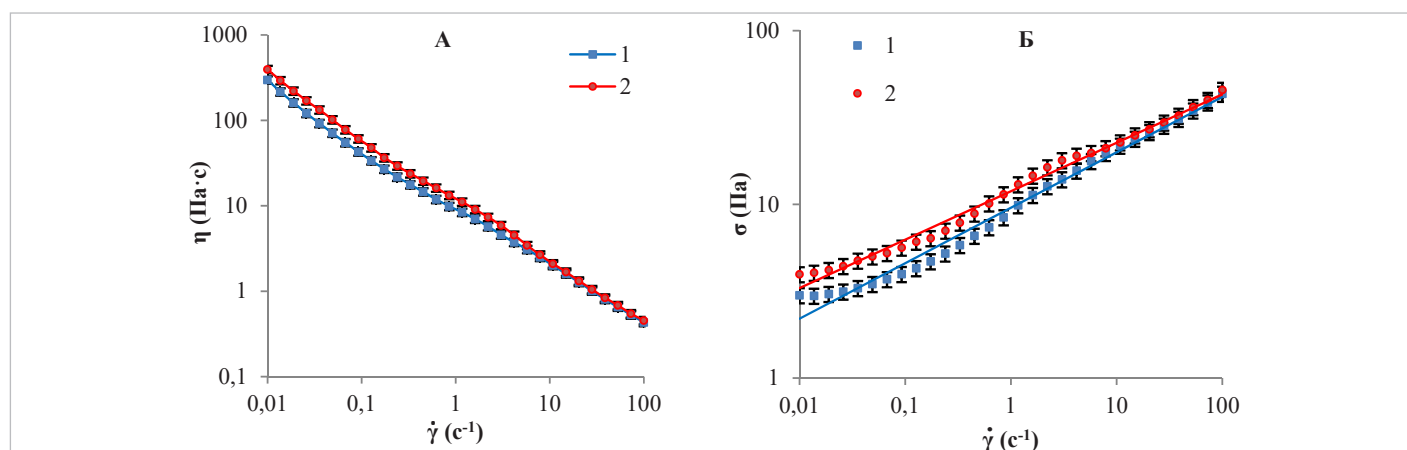


Рисунок 6. Зависимость: А — вязкости; Б — напряжения сдвига приготовленных кулинарных соусов с добавлением белкового гидролизата от скорости сдвига: 1 — соус с добавлением 3% белкового гидролизата; 2 — соус с добавлением 12% белкового гидролизата; данные Б аппроксимированы уравнением (4); $T = 20^\circ\text{C}$

Figure 6. Dependence of the viscosity (A) and yield stress (B) of prepared culinary sauces with the addition of protein hydrolysate on the shear rate: 1 — sauce with the addition of 3% protein hydrolysate; 2 — sauce with the addition of 12% protein hydrolysate; data B is fit to the equation (4); $T = 20^\circ\text{C}$

исследования показателей «сжатие» и «липкость» находились на одном уровне для всех образцов в пределах допустимой погрешности прибора. Полученные результаты можно объяснить тем, что главную роль в загущении соусов играют вещества полисахаридной природы, в особенности крахмал, находящийся в составе пшеничной муки, а также камеди [33]. В работах [34,35] было показано, что концентрация камедей оказывает значительное влияние на изменение структуры соусов (в частности, была установлена положительная корреляция между реологическими показателями и концентрацией добавленного полисахарида). Таким образом, отсутствие изменений данных показателей в настоящей работе обусловлено используемой дозировкой муки, которая в исследуемых образцах соусов остается постоянной.

Далее для изучения реологических свойств соусов на реометре были взяты два образца: 1 — с введением 3% гидролизата к массе смеси, 2 — с введением 12% гидролизата.

На Рисунке 6 приведены кривые течения в форме зависимости вязкости и напряжения сдвига приготовленных соусов от скорости сдвига. Исследованные образцы демонстрируют неньютоновское поведение, заключающееся в изменении вязкости системы при изменении скорости ее деформации, что соотносится с типичным поведением многих других соусов (майонеза [36], сладкого [37] и абрикосового соусов [38]).

Вязкость исследуемых образцов соусов возникает в связи с наличием в объеме единиц течения надмолекулярного размера — преимущественным образом агрегатов макромолекул крахмала, выполняющего функцию загустителя [39]. Поскольку вязкость соуса при росте скорости сдвига уменьшается, можно говорить о сдвиговом разжижении системы, что также наблюдалось в исследовании систем на основе крахмала и молочных белков наряду с тиксотропными свойствами [40].

В связи с определяющей ролью крахмала в системе кривые течения могут быть аппроксимированы степенной функцией (закон Оствальда-де Ваала), используемой для описания взаимосвязи напряжения и скорости сдвига крахмалсодержащих систем [41]:

$$\sigma = K \cdot \dot{\gamma}^n. \quad (4)$$

Величины индексов течения обеих систем удовлетворяют условию $n < 1$, которое выполняется для псевдопластичных жидкостей и, в частности, для других соусов с добавлением полисахаридов в качестве загустителей [42]. Неньютоновский характер течения соуса с 12% введенного гидролизата выражен более ярко. Это объясняется затрудненной ориентацией частиц крахмала в потоке при высокой концентрации белковых молекул, то есть не только увеличением концентрации твердого вещества, но и возможным образованием агрегатов, включая интерполимерные [43].

Исследовано вязкоупругое поведение образцов соусов, отражающее комбинацию как твердо-, так и жидкообразных свойств образцов соусов на основе крахмала с добавлением белкового гидролизата. Получены зависимости компонентов комплексного модуля упругости от амплитуды деформации в режиме гармонических периодических осцилляций (Рисунок 7).

Превышение величины модуля сохранения (G') над величиной модуля потерь (G'') в области малых амплитуд свидетельствует

о преимущественно твердообразном поведении образцов. В данном диапазоне значения компонентов комплексного модуля упругости не зависят от амплитуды деформации; в то же время небольшая ширина диапазона может быть вызвана несформированностью сетки устойчивых зацеплений между участками макромолекул крахмала [39]. Затем имеет место снижение значений модуля накопления. При некотором значении амплитуды деформации наблюдается пересечение амплитудных зависимостей модуля сохранения и модуля потерь. Точка пересечения модулей ($G' = G''$) представляет собой точку, в которой внутренняя структура разрушается. Это приводит к течению материала, что свидетельствует о переходе к преобладанию жидкообразных свойств. Наложение погрешностей значений обоих модулей в этой области, а также модуля потерь во всем исследованном амплитудном диапазоне указывает на то, что добавки гидролизата оказывают преимущественное влияние на твердообразность свойств образца.

Частотные зависимости динамических модулей при постоянной амплитуде деформации, выбранной в линейном вязкоупругом диапазоне, приведены на Рисунке 8.

В изучаемом диапазоне частот значения модуля сохранения выше модуля потерь, что свидетельствует о преимущественно твердообразном поведении — преобладании упругости над вязкостью в поведении образцов соусов. В то же время характерная для гелей биополимеров со стабильной внутренней трехмерной структурой область постоянства значений G' в области малых скоростей сдвига отсутствует. Такая реологическая картина наблюдается при высокой

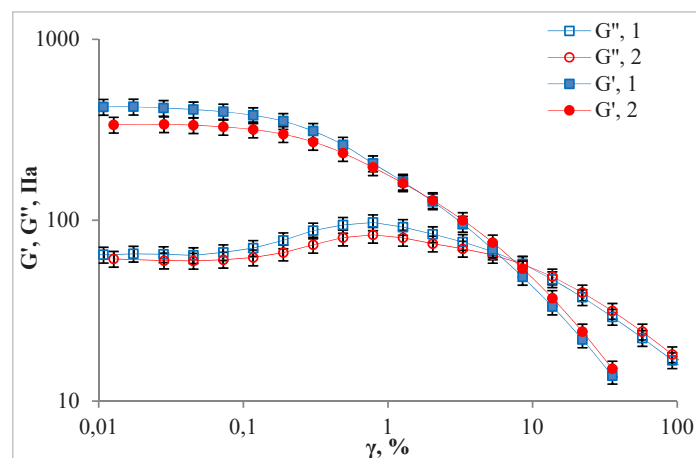


Рисунок 7. Зависимость модулей сохранения (G') и потерь (G'') от амплитуды для образцов соусов, где 1 — соус с добавлением 3% белкового гидролизата; 2 — соус с добавлением 12% белкового гидролизата; $T = 20^\circ\text{C}$, $\omega = 6,28$ рад/с

Figure 7. Dependence of the storage (G') and loss (G'') moduli on the amplitude for sauce samples, where 1 is the sauce with the addition of 3% protein hydrolysate; 2 is the sauce with the addition of 12% protein hydrolysate; $T = 20^\circ\text{C}$, $\omega = 6.28$ rad/s

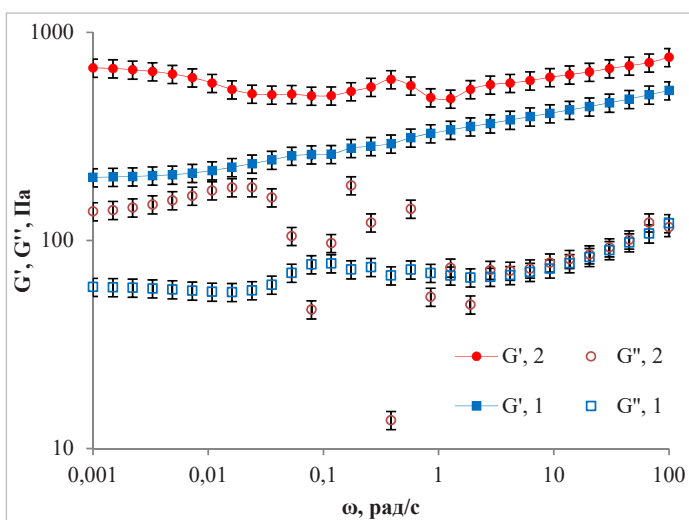


Рисунок 8. Зависимость модулей сохранения (G') и потерь (G'') от частоты для образцов соусов, где 1 — соус с добавлением 3% белкового гидролизата; 2 — соус с добавлением 12% белкового гидролизата; $T = 20^\circ\text{C}$, $\gamma = 0,05\%$
 Figure 8. Dependence of the storage (G') and loss (G'') moduli on the frequency for sauce samples, where 1 is the sauce with the addition of 3% protein hydrolysate; 2 is the sauce with the addition of 12% protein hydrolysate; $T = 20^\circ\text{C}$, $\gamma = 0.05\%$

подвижности макромолекулярных цепей и динамической структуре, образованной крахмалом в составе соуса [39]. В немонотонность изменения G' в случае соуса с добавлением 12% белкового гидролизата вклад вносит возможная седиментация в условиях эксперимента крупных крахмальных и белковых агрегатов. В работе [41] подобный характер вязкоупругого поведения демонстрировали водные дисперсии крахмала, подвергавшиеся предварительной тепловой обработке. Сходные формы амплитудных и частотных зависимостей для крахмалосодержащих соусов приводятся также в [42]. Это подтверждает определяющий характер крахмала в отношении реологического поведения изученных образцов.

В то же время полученные данные свидетельствуют о влиянии вводимого гидролизата (в т. ч. его количества) на реологические характеристики соусов. Это влияние выражается в увеличении вязкости, напряжения и динамических модулей. Однако детальное описание этого процесса требует более подробного исследования

механического поведения модельных систем, т. к. взаимодействия различной природы между макромолекулами крахмала и белкового гидролизата [43] усложняют характер течения и предсказуемость их вязкоупругих характеристик [40]. При изменении содержания белкового гидролизата в соусах варьируется и содержание других компонентов — концентрата рыбного бульона и пищевой соли, что также может отражаться на реологических свойствах.

Таким образом, на основании результатов, полученных при выполнении комплексных исследований, была определена возможность получения высокобелковых ингредиентов (конхиса и гидролизата) из створок раковин мидий и использования их в технологии сухого кулинарного соуса. Данные результаты могут быть перспективны с точки зрения развития комплексных технологий переработки побочных продуктов аквакультуры в ПВДС, а также расширения ассортимента инновационных продуктов питания с заданными свойствами, что будет способствовать развитию пищевой отечественной отрасли. Применение комплексных технологий на пищевых предприятиях в сфере переработки ВБР позволит извлечь из вторичного сырья и побочных продуктов ценные питательные и биологически активные вещества, получить функциональные пищевые ингредиенты.

4. Выводы

Были получены ингредиенты с высоким содержанием белка (конхис и гидролизат) из створок раковин мидий *Mytilus edulis* L. и определена возможность их использования в технологии сухого кулинарного соуса. Конхис в связи с низкой растворимостью и плохой перевариваемостью был подвергнут ферментативному гидролизу с использованием панкреатина. Результаты экспериментов показали, что использование белкового гидролизата в технологии сухих соусов позволяет увеличить содержание белка в готовом продукте. На основании органолептической оценки установлена рекомендуемая дозировка белкового гидролизата в рецептуре продукта, которая варьируется от 3 до 9%. Дозировка 3% может использоваться для приготовления соуса, который по органолептическим показателям будет близок к традиционным рыбным соусам. Дозировка 9% подойдет для обогащения продукции ценными и легкодоступными аминокислотами и полипептидами из мидий. Определено, что дозировка гидролизата до 12% не оказывает существенного влияния на реологические свойства приготовленных соусов. Результаты данных исследований позволят расширить базу знаний о возможных способах получения и использования белковых веществ из створок раковин мидий в пищевых продуктах, что может быть полезно для развития технологий переработки побочных продуктов аквакультуры в ПВДС.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК / REFERENCES

- Derkach, S. R., Kuchina, Y. A., Kolotova, D. S., Petrova, L. A., Volchenko, V. I., Glukharev, A. Y. et al. (2022). Properties of protein isolates from marine hydrobionts obtained by isoelectric solubilisation/precipitation: Influence of temperature and processing time. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(22), Article 14221. <https://doi.org/10.3390/ijms232214221>
- Wan, M., Qin, W., Lei, C., Li, Q. H., Meng, M., Fang, M. et al. (2021). Biomaterials from the sea: Future building blocks for biomedical applications. *Bioactive Materials*, 6(12), 4255–4285. <https://doi.org/10.1016/j.bioactmat.2021.04.028>
- Dave, J., Kumar, N., Upadhyay, A., Purba, D. T., Kudre, T., Nukthamna, P. et al. (2025). Sustainable fish oil extraction from catfish visceral biomass: A comparative study between high-shear homogenization and highfrequency ultrasound on wet rendering process. *Foods and Raw Materials*, 13(1), 94–106. <https://doi.org/10.21603/2308-4057-2025-1-627>
- Pita Rengga, W. D., Salsabill, K. A., Harianingsih, Oktavia, S. E., Ansori, M. (September 18–19, 2019). *Flavored powder from shrimp shells with bromelain enzymatic process and adding of flour and spices*. Journal of Physics: Conference Series, International Conference on Engineering, Technology and Innovative Researches, Purwokerto, Indonesia. IOP Publishing, 2019. <https://doi.org/10.1088/1742-6596/1367/1/012080>
- Kaushik, N., Falch, E., Slizyte, R., Kumari, A., Hjellnes, V., Sharma, A. et al. (2024). Valorization of fish processing by-products for protein hydrolysate recovery: Opportunities, challenges and regulatory issues. *Food Chemistry*, 459, Article 140244. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2024.140244>
- FAO. (2020). The State of World Fisheries and Aquaculture 2020. Sustainability in action. Rome. Retrieved from <https://www.fao.org/3/ca9229en/ca9229en.pdf>. Accessed 27 November 2024
- Osa, J. L., Mondragon, G., Ortega, N., Marzo, F. F., Peña-Rodríguez, C. (2022). On the friability of mussel shells as abrasive. *Journal of Cleaner Production*, 375, Article 134020. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2022.134020>
- Naik, A. S., Hayes, M. (2019). Bioprocessing of mussel by-products for value added ingredients. *Trends in Food Science and Technology*, 92, 111–121. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2019.08.013>
- Tokeshi, M., Ota, N., Kawai, T. (2000). A comparative study of morphometry in shell-bearing molluscs. *Journal of Zoology*, 251(1), 31–38. <https://doi.org/10.1111/j.1469-7998.2000.tb00590.x>
- Zhang, C., Zhang, R. (2006). Matrix proteins in the outer shells of molluscs. *Marine Biotechnology*, 8, 572–586. <https://doi.org/10.1007/s10126-005-6029-6>
- Ehrlich, H., Martinović, R., Joksinić, D., Petrenko, I., Schiaparelli, S., Wysocki, M. et al. (2020). Conchixes: Organic scaffolds which resemble the size and shapes of mollusks shells, their isolation and potential multifunctional applications. *Applied Physics A*, 126, Article 562. <https://doi.org/10.1007/s00339-020-03728-7>
- Ismail, R., Fitriyana, D. F., Santosa, Y. I., Nugroho, S., Hakim, A. J., Al Mulqi, M. S. et al. (2021). The potential use of green mussel (*Perna Viridis*) shells for synthetic calcium carbonate polymorphs in biomaterials. *Journal of Crystal Growth*, 572, Article 126282. <https://doi.org/10.1016/j.jcrysgro.2021.126282>
- Borciani, G., Fischetti, T., Ciapetti, G., Montesissa, M., Baldini, N., Graziani, G. (2023). Marine biological waste as a source of hydroxyapatite for bone tissue engineering applications. *Ceramics International*, 49(2), 1572–1584. <https://doi.org/10.1016/j.ceramint.2022.10.341>
- Chi, H., Pan, X., Zhang, G. (2023). Structure and function of the periostracum in the bivalve *Perna viridis*. *Micron*, 169, Article 103458. <https://doi.org/10.1016/j.micron.2023.103458>
- Chen, B., Peng, X., Wang, J. G., Wu, X. (2004). Laminated microstructure of Bivalva shell and research of biomimetic ceramic/polymer composite. *Ceramics International*, 30(7), 2011–2014. <https://doi.org/10.1016/j.ceramint.2003.12.169>
- Agbaje, O. B. A., Thomas, D. E., Dominguez, J. G., McInerney, B. V., Kosnik, M. A., Jacob, D. E. (2019). Biomacromolecules in bivalve shells with crossed lamellar architecture. *Journal of Materials Science*, 54(6), 4952–4969. <https://doi.org/10.1007/s10853-018-3165-8>
- Boukid, F., Rosell, C. M., Castellari, M. (2021). Pea protein ingredients: A mainstream ingredient to (re) formulate innovative foods and beverages. *Trends in Food Science and Technology*, 110, 729–742. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2021.02.040>

18. Harper, M. M., Cunningham, P. M., Hayes, J. E. (2024). Serving a dip with a salty snack promotes energy intake. *Food Quality and Preference*, 120, Article 105257. <https://doi.org/10.1016/j.foodqual.2024.105257>
19. Wang, J., Xie, Z., Feng, Y., Huang, M., Zhao, M. (2024). Co-culture of *Zygosaccharomyces rouxii* and *Wickerhamiella versatilis* to improve soy sauce flavor and quality. *Food Control*, 155, Article 110044. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2023.110044>
20. Chen, C., Hou, S., Wu, C., Cao, Y., Tong, X., Chen, Y. (2023). Improving protein utilization and fermentation quality of soy sauce by adding protease. *Journal of Food Composition and Analysis*, 121, Article 105399. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2023.105399>
21. Tan, C., McClements, D. J. (2021). Application of advanced emulsion technology in the food industry: A review and critical evaluation. *Foods*, 10(4), Article 812. <https://doi.org/10.3390/foods10040812>
22. Sheir, M. A., Serrapica, F., Ahmed, R. A. (2023). An innovative use of propolis in the production of dipping sauce powder as a functional food to mitigate testicular toxicity induced by cadmium chloride: Technological and biological evidence. *Foods*, 12(16), Article 3069. <https://doi.org/10.3390/foods12163069>
23. El Haggag, E. F., Mahmoud, K. F., Ramadan, M. M., Zahran, H. A. (2023). Tomato-Free wonder sauce: A functional product with health-boosting properties. *Journal of Functional Foods*, 109, Article 105758. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2023.105758>
24. Alqahtani, N. (2020). Physico-chemical and sensorial properties of ketchup enriched with khalas date pits powder. *Scientific Journal of King Faisal University*, 21(1), 172–176. <https://doi.org/10.37575/b/agr/2030>
25. Wang, L., Wang, Z., Chen, Y., Chen, J., Pan, M., Cheong, K. L. et al. (2024). The effect of adding *Gracilaria* on flavor and quality of low-salt fermented soy sauce. *LWT*, 210, Article 116890. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2024.116890>
26. Derkach, S., Kravets, P., Kuchina, Y., Glukharev, A., Tyukina, O., Bordiyan, V. et al. (2023). Mineral-free biomaterials from mussel (*Mytilus edulis* L.) shells: Their isolation and physicochemical properties. *Food Bioscience*, 56, Article 103188. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2023.103188>
27. Ozuni, E., Andoni, E., Castrica, M., Balzaretti, C. M., Brecchia, G., Agradi, S. et al. (2024). Human exposure to heavy metals and possible public health risks via consumption of mussels *M. galloprovincialis* from the Albanian sea coast. *Chemosphere*, 368, Article 143689. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2024.143689>
28. Gaurowitz, F. (1963). The chemistry and function of proteins. New York, Academic Press, 1963
29. Свириденко, Ю. Я., Мягконосов, Д. С., Абрамов, Д. В., Овчинникова, Е. Г. (2017). Научно-методические подходы к развитию технологии белковых гидролизатов для специального питания. Часть 1. Технология производства и технические характеристики гидролизатов. *Пищевая промышленность*, 5, 48–51. [Sviridenko, Yu. Ya., Myagkonosov, D. S., Abramov, D. V., Ovchinnikova, E. G. (2017). Theoretical and practical aspects of development technology of manufacturing protein hydrolysates for special nutrition use. Part 1. Technology of production and technical characteristics of hydrolysates. *Food Industry*, 5, 48–51. (In Russian)]
30. Derkach, S., Kuchina, Y., Kolotova, D., Bordiyan, V., Luneva, S., Alloyarova, Y. et al. (2024). Protein hydrolysates from *Mytilus edulis* L. mussel: Physicochemical and antioxidant properties. *BIO Web of Conferences*, 130, Article 05006. <https://doi.org/10.1051/bioconf/202413005006>
31. Бородин, А. В., Задорожный, П. А. (2020). Трансформация каротиноидов морского двусторчатого моллюска *Cerastoderma glaucum* (Bruguier, 1789) при питании культурой зеленой микроводоросли. *Журнал эволюционной биохимии и физиологии*, 56(6), 430–438. [Borodina, A. V., Zadorozhny, P. A. (2020). Transformation of carotenoids in the marine bivalve mollusk *Cerastoderma glaucum* while feeding with a culture of green microalgae. *Journal of Evolutionary Biochemistry and Physiology*, 56(6), 430–438. <https://doi.org/10.31857/S0044452920060030> (In Russian)]
32. Свириденко, Ю. Я., Мягконосов, Д. С., Абрамов, Д. В., Овчинникова, Е. Г. (2017). Научно-методические подходы к развитию технологии белковых гидролизатов для специального питания. Часть 2. Функциональные свойства белковых гидролизатов, зависящие от специфичности протеолитических процессов. *Пищевая промышленность*, 6, 50–53. [Sviridenko, Yu. Ya., Myagkonosov, D. S., Abramov, D. V., Ovchinnikova, E. G. (2017). Theoretical and practical aspects of development technology of manufacturing protein hydrolysates for special nutrition use. Part 2. Functional properties of protein hydrolysates that depend on the specificity of proteolytic processes. *Food Industry*, 6, 50–53. (In Russian)]
33. Román, L., Reguilón, M. P., Gómez, M. (2018). Physicochemical characteristics of sauce model systems: Influence of particle size and extruded flour source. *Journal of Food Engineering*, 219, 93–100. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2017.09.024>
34. Sikora, M., Kowalski, S., Tomasik, P., Sady, M. (2007). Rheological and sensory properties of dessert sauces thickened by starch — xanthan gum combinations. *Journal of Food Engineering*, 79(4), 1144–1151. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2006.04.003>
35. Wang, T., Zhang, M., Fang, Z., Liu, Y., Gao, Z. (2016). Rheological, textural and flavour properties of yellow mustard sauce as affected by modified starch, xanthan and guar gum. *Food and Bioprocess Technology*, 9, 849–858. <https://doi.org/10.1007/s11947-016-1673-6>
36. Бредихин, С. А., Мартыха, А. Н., Андреев, В. Н., Каверина, Ю. Е., Короткий, И. А. (2022). Исследование реологических свойств майонеза с нетрадиционным сырьем. *Техника и технология пищевых производств*, 52(4), 739–749. <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2022-4-2402> [Bredikhin, S. A., Martekha, A. N., Andreev, V. N., Kaverina, Yu. E., Korotkiy, I. A. (2022). Rheological Properties of Mayonnaise with Non-Traditional Ingredients. *Food Processing: Techniques and Technology*, 52(4), 739–749. (In Russian)] <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2022-4-2402>
37. Aussanasuwannakul, A., Pondicherry, K., Saengprakai, J. (2022). Rheological and tribological characterization of herbal sweet sauce with different stabilizing systems. *CyTA — Journal of Food*, 20(1), 158–171. <https://doi.org/10.1080/19476337.2022.2107706>
38. Levent, O., Alpaslan, M. (2018). Effect of processing parameters on some physicochemical properties, sugar profile and rheological characterization of apricot sauce. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 12, 1072–1083. <https://doi.org/10.1007/s11694-018-9725-6>
39. Ahmed, J., Basu, S., Chandak, A. (2023). Rheology and rheological measurements of starch. Chapter in a book: *Advances in Food Rheology and Its Applications* (Second Edition). Woodhead Publishing. 2023. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-823983-4.00016-9>
40. Thebaudin, J.-Y., Lefebvre, A.-C., Doublier, J.-L. (1998). Rheology of starch pastes from starches of different origins: Applications to starch-based sauces. *LWT — Food Science and Technology*, 31(4), 354–360. <https://doi.org/10.1006/food.1998.0367>
41. Xu, F., Zhang, L., Liu, W., Liu, Q., Wang, F., Zhang, H. et al. (2021). Physicochemical and structural characterization of potato starch with different degrees of gelatinization. *Foods*, 10(5), Article 1104. <https://doi.org/10.3390/foods10051104>
42. Okonkwo, V. C., Mba, O. I., Kwofie, E. M., Ngadi, M. O. (2021). Rheological properties of meat sauces as influenced by temperature. *Food and Bioprocess Technology*, 14, 2146–2160. <https://doi.org/10.1007/s11947-021-02709-9>
43. Zhang, B., Qiao, D., Zhao, S., Lin, Q., Wang, J., Xie, F. (2021). Starch-based food matrices containing protein: Recent understanding of morphology, structure, and properties. *Trends in Food Sciences and Technology*, 114, 212–231. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2021.05.033>

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ	AUTHOR INFORMATION
Принадлежность к организации	Affiliation
Глухареv Андрей Юрьевич — кандидат технических наук, научный сотрудник, Научно-исследовательская лаборатория «Химия и технология морских биоресурсов», Мурманский арктический университет 183010, Мурманск, ул. Спортивная, 13 Тел.: +7-911-321-44-26 E-mail: glukharevayu@yandex.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0002-6083-546X * автор для контактов Бордиян Влада Вадимовна — младший научный сотрудник, Научно-исследовательская лаборатория «Химия и технология морских биоресурсов», Мурманский арктический университет 183010, Мурманск, ул. Спортивная, 13 Тел.: +7-921-270-39-11 E-mail: bordiyanvv@mauniver.ru ORCID: http://orcid.org/0009-0004-5680-8882 Кузина Таисия Дмитриевна — учебный мастер, Кафедра химии, Мурманский арктический университет 183010, Мурманск, ул. Спортивная, 13 Тел.: +7-908-606-49-47 E-mail: kuzinatd@mauniver.ru ORCID: http://orcid.org/0009-0008-4060-0103	Andrei Yu. Glukharev, Candidate of Technical Sciences, Research Fellow, Laboratory of Chemistry and Technology of Marine Bioresources, Murmansk Arctic University Sportivnaya str., 13, Murmansk, 183010, Russia Tel.: +7-911-321-44-26 E-mail: glukharevayu@yandex.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0002-6083-546X * corresponding author Vlada V. Bordiyan, Junior Researcher, Laboratory of Chemistry and Technology of Marine Bioresources, Murmansk Arctic University Sportivnaya str., 13, Murmansk, 183010, Russia Tel.: +7-921-270-39-11 E-mail: bordiyanvv@mauniver.ru ORCID: http://orcid.org/0009-0004-5680-8882 Taisiya D. Kuzina, Educational Master, Department of Chemistry, Murmansk Arctic University Sportivnaya str., 13, Murmansk, 183010, Russia Tel.: +7-908-606-49-47 E-mail: kuzinatd@mauniver.ru ORCID: http://orcid.org/0009-0008-4060-0103

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ	AUTHOR INFORMATION
Принадлежность к организации	Affiliation
Кучина Юлия Анатольевна — кандидат технических наук, старший научный сотрудник, Научно-исследовательская лаборатория «Химия и технология морских биоресурсов», Мурманский арктический университет 183010, Мурманск, ул. Спортивная, 13 Тел.: +7–911–346–73–05 E-mail: kuchinayua@mauniver.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0003-3419-1442	Yuliya A. Kuchina , Candidate of Technical Sciences, Senior Researcher, Laboratory of Chemistry and Technology of Marine Bioresources, Murmansk Arctic University Sportivnaya str., 13, Murmansk, 183010, Russia Tel.: +7–911–346–73–05 E-mail: kuchinayua@mauniver.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0003-3419-1442
Деркач Светлана Ростиславовна — доктор химических наук, главный научный сотрудник, Научно-исследовательская лаборатория «Химия и технология морских биоресурсов», Мурманский арктический университет 183010, Мурманск, ул. Спортивная, 13 Тел.: +7–911–337–16–81 E-mail: derkachsr@mauniver.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0002-5871-9320	Svetlana R. Derkach , Doctor of Chemical Sciences, Chief Researcher, Laboratory of Chemistry and Technology of Marine Bioresources, Murmansk Arctic University Sportivnaya str., 13, Murmansk, 183010, Russia Tel.: +7–911–337–16–81 E-mail: derkachsr@mauniver.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0002-5871-9320
Критерии авторства	Contribution
Авторы в равных долях имеют отношение к написанию рукописи и одинаково несут ответственность за плагиат.	The author has the sole responsibility for writing the manuscript and is responsible for plagiarism.
Конфликт интересов	Conflict of interest
Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.	The authors declare no conflict of interest.

DOI: <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2025-8-1-144-152>

Поступила 22.11.2024

Поступила после рецензирования 31.03.2025

Принята в печать 02.04.2025

© Витол И. С., Мелешкина Е. П., 2025



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

Обзорная статья

Open access

ФЕРМЕНТАТИВНЫЕ ГИДРОЛИЗАТЫ ЗЕРНА И ПРОДУКТОВ ЕГО ПЕРЕРАБОТКИ. ОБЗОР ПРЕДМЕТНОГО ПОЛЯ

Витол И. С.*, Мелешкина Е. П.

Всероссийский научно-исследовательский институт зерна и продуктов его переработки, Москва, Россия

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: АННОТАЦИЯ

зерно и продукты его переработки, зерновые гидролизаты, ферментные препараты (ФП), мультиэнзимные композиции (МЭК), биокатализ

Представлен обзор научных публикаций, посвященных исследованию действия ферментных препаратов и их композиций на различные зерновые субстраты, получению ферментативных гидролизатов и структурно-модифицированных вторичных продуктов переработки зерна. В зависимости от поставленных целей, главная из которых — индустриальное использование продуктов ферментативной модификации, предложен способ разделения гидролизатов на две группы: первая — с выделением и очисткой белка от балластных соединений с последующим гидролизом; вторая — без предварительного выделения белка. Настоящий обзор построен на основе результатов исследований отечественных и зарубежных авторов с использованием ресурсов поисковых систем и баз данных: *eLibrary*, *CyberLeninka*, *Google Scholar*, *ScienceDirect*, *Springer open*, *PubMed*. Анализ предметного поля свидетельствует об очень широком диапазоне публикаций по характеристике ферментативных гидролизатов, для получения которых в качестве субстрата использовали биополимеры животного и растительного сырья. За последнее десятилетие существенно увеличилось количество работ по ферментативной модификации различных видов зерновых и бобовых культур, композитных зерносмесей; изучены возможности их использования в качестве обогащающих, функционально-технологических и функциональных компонентов кормов и пищевых продуктов. Возрождение микробиологической отрасли, в том числе производства отечественных ферментных препаратов, базируется на экспериментальных исследованиях по поиску новых штаммов-продуцентов и совершенствованию методов выделения, очистки и стабилизации ферментов. Все исследования отечественных и зарубежных авторов подтверждают актуальность и хорошую перспективу расширения диапазона применения ферментативных гидролизатов, полученных из зернового сырья и вторичных продуктов его переработки в различных областях кормопроизводства, пищевой индустрии, фармакологии.

ФИНАНСИРОВАНИЕ: Статья подготовлена в рамках выполнения государственного задания Всероссийским научно-исследовательским институтом зерна и продуктов его переработки (ВНИИЗ) по теме FGUS-2025-0002.

Received 22.11.2024

Accepted in revised 31.03.2025

Accepted for publication 02.04.2025

© Vitol I. S., Meleshkina E. P., 2025

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

Review article

Open access

ENZYMATIC HYDROLYSATES OF GRAIN AND PRODUCTS OF ITS PROCESSING. A REVIEW OF THE SUBJECT FIELD

Irina S. Vitol*, Elena P. Meleshkina

All-Russian Scientific and Research Institute for Grain and Products of its Processing, Moscow, Russia

KEY WORDS:

grain and products of its processing, grain hydrolysates, enzyme preparations (EP), multienzyme compositions (MEC), biocatalysis

ABSTRACT

The paper presents a review of scientific publications devoted to investigation of an action of enzyme preparations and their compositions on various grain substrates, production of enzymatic hydrolysates and structurally modified secondary products of grain processing. Depending on the set goals, the main of which is the industrial use of products of enzymatic modification, a method is proposed for separation of hydrolysates into two groups: (1) with isolation and purification of protein from ballast compounds with the following hydrolysis and (2) without preliminary isolation of protein. The present review is based on the results of studies by national and foreign scientists with the use of search systems and databases: *eLibrary*, *CyberLeninka*, *Google Scholar*, *ScienceDirect*, *Springer open*, *PubMed*. Analysis of the subject field shows a very wide range of publications related to characteristics of enzymatic hydrolysates produced using biopolymers of animal and plant raw materials as a substrate. Over the last ten years, the number of studies on enzymatic modification of various types of grain and leguminous crops, and composite grain mixtures has increased significantly; the possibilities of their use as enriching, functional-technological and functional components of feedstuff and food products have been studied. The revival of the microbiological branch, including production of domestic enzyme preparations, is based on experimental studies on the search for new producer strains and improvement of methods for isolation, purification and stabilization of enzymes. All studies by national and foreign authors support the topicality and good prospects of increasing a range of the use of enzymatic hydrolysates obtained from the grain raw material and secondary products of its processing in various areas of the feedstuff production, food industry and pharmacology.

FINANCING: The article was prepared as part of the state assignment by the All-Russian Research Institute of Grain and its Processed Products (VNIIZ) on topic FGUS-2025-0002.

1. Введение

Использование ферментативного катализа как современного инструментария глубокой переработки растительного сырья, в том числе зерновых культур, получило новый импульс развития благодаря успехам биотехнологии в производстве новых высокоэффективных

микробных ферментных препаратов различной специфичности действия [1,2,3].

Помимо того, что различные ферментативные процессы лежат в основе многих современных производств [4] (хлебопечение, виноделие, пивоварение, производство спирта, соков, сыроделие,

ДЛЯ ЦИТИРОВАНИЯ: Витол И. С., Мелешкина Е. П. (2025). Ферментативные гидролизаты зерна и продуктов его переработки. Обзор предметного поля. *Пищевые системы*, 8(1), 144–152. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2025-8-1-144-152>

FOR CITATION: Vitol I. S., Meleshkina E. P. (2025). Enzymatic hydrolysates of grain and products of its processing. A review of the subject field. *Food Systems*, 8(1), 144–152. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2025-8-1-144-152>

производство органических кислот, чая, аминокислот, витаминов, антибиотиков) [5–7], ферментативные гидролизаты как самостоятельный продукт в настоящее время занимают свою нишу на рынке пищевых добавок, обогащающих и биологически активных ингредиентов. Исследования проводятся по разным направлениям, что позволяет использовать побочные продукты переработки растительного сырья для получения ценных пищевых ингредиентов. Это также открывает новые возможности их применения не только в производстве кормов [8–10], но и в пищевой индустрии для обогащения пищевых продуктов легкоусвояемыми компонентами и для придания им функциональных свойств [11–13]. Помимо этого, некоторые гидролизаты содержат биологически активные пептиды, обладающие хорошим фармакологическим потенциалом [14–16]. В этой связи повышенное внимание исследователей и производителей ферментных препаратов должно уделяться вопросам контроля их качества и безопасного применения [17–19].

Анализ предметного поля свидетельствует об очень широком диапазоне публикаций по получению и характеристике ферментативных гидролизатов, при этом в качестве субстрата используют биополимеры животного и растительного сырья: мясо [13,14], молоко и продукты их переработки и др. [20–22]; злаковые [23–25], бобовые [26], масляные культуры и зерносмеси [27,28], плодово-ягодное сырье [29,30], а также биомассу дрожжей [31]. При этом акцент делается на побочные продукты производства, которые являются ценным вторичным сырьем. Очевидно, что именно субстрат, его биохимические особенности определяют выбор микробных ферментных препаратов различной специфичности действия.

За последнее десятилетие значительно возросла доля исследований по разработке способов ферментативной модификации зерновых культур и зерновых смесей, опубликованных в научной литературе. Активно изучаются возможности использования зерновых гидролизатов в качестве обогащающих, функционально-технологических и функциональных компонентов кормов и пищевых продуктов.

Данный обзор посвящен анализу научных подходов к получению ферментативных гидролизатов белков зерна и связанных с ними соединений (некрахмальных полисахаридов, фитина и других веществ), а также изучению их характеристик и областей применения.

2. Объекты и методы

Настоящий обзор включает научные публикации, в которых представлены результаты экспериментальных исследований, и обзорные статьи отечественных и зарубежных авторов, опубликованные с 2011 по 2024 годы. Стратегия поиска включала базы данных таких поисковых систем, как eLibrary, CyberLeninka, Google Scholar, ScienceDirect, Springer open, PubMed, и использование ключевых слов: зерно и продукты его переработки, зерновые гидролизаты, ферментные препараты, мультienzимные композиции, биокатализ. Помимо этого, к поиску были привлечены ведущие российские и иностранные журналы по направлению «food science», изучены публикации в сборниках международных конференций и библиографии пристатейных списков. Отобраны 88 источников. Критериями отбора публикаций являлись актуальность, практическая значимость, индексация в российских и международных наукометрических базах данных.

3. Ферментативные гидролизаты: получение, свойства, применение

В настоящее время значительно увеличилось число исследований отечественных ферментных препаратов, применяемых для получения гидролизатов. Это связано с уходом с российского рынка многих зарубежных фирм — производителей ферментных препаратов для разных отраслей пищевой индустрии. Доля научных публикаций по поиску новых штаммов-продуцентов микробных ферментов, совершенствованию технологии выделения, очистки и стабилизации ферментов, входящих в состав ферментных препаратов значительно возросла за последнее десятилетие. Кроме того, высокая заинтересованность со стороны производителей также способствует разработке новых способов ферментативной модификации сырья. В то же время зависимость отечественного рынка от импорта ферментных препаратов остается высокой (по разным оценкам, российские производители покрывают лишь около 10% рынка); при этом наблюдается замещение препаратов производства западных фирм на ФП, произведенные в Китае и Индии.

3.1. Виды гидролизатов и их индустриальное применение

По данным биотехнологической компании «Симбио»¹ (Россия), к основным гидролизатам белка, присутствующим на глобальном рынке, относятся следующие виды: мясные/рыбные — гидролизаты куриного белка, коллагена, кератина, рыбный, печеночный и говя-

жий гидролизаты; молочные — гидролизаты казеина, сывороточных белков; растительные — гидролизаты глютена (клейковины), соевого и горохового белка.

Наибольшее распространение и применение пока получили гидролизаты животных белков — молочных, мясных и рыбных. Однако в последние годы и гидролизаты белков растительного происхождения находят все большее применение в различных областях пищевой индустрии. Это связано с доступностью и более низкой себестоимостью растительного сырья, а также с увеличением сегмента рынка вегетарианских и веганских продуктов и напитков.

Основными направлениями индустриального применения ферментативных гидролизатов белка являются:

1) производство продуктов питания. Использование белковых гидролизатов как функциональных компонентов необходимо для производства специализированных продуктов питания, включая функциональные, лечебно-профилактические и геронтологические. Кроме того, они необходимы для повышения биологической ценности и улучшения потребительских свойств продуктов массового потребления. Так, в хлебопечении белковые гидролизаты оказывают благотворное влияние на реологические свойства теста (упругость, пластичность, эластичность, вязкость) [32].

При производстве протеиновых гипоаллергенных напитков из зерновых культур и напитков на основе соков добавление белковых гидролизатов никак не отражается на вкусе, но при этом содержит повышенное количество продуктов расщепления белка [33].

В мясной и птицеперерабатывающей промышленности ферментативные гидролизаты куриного белка, обладающие оптимальным аминокислотным составом и высокой усвояемостью, применяются в составе рассольных препаратов для посола сырья, а также комплексных пищевых добавок для различных фаршевых продуктов (полуфабрикатов, колбасных и кулинарных изделий) [34,35].

Белки молочной сыворотки являются перспективным сырьем для получения ферментативных гидролизатов, широко применяемых в детском, спортивном питании, при создании продуктов профилактического и терапевтического назначения. Учитывая, что основные белки молочной сыворотки — β -лактоглобулин и α -лактальбумин — обладают сильным иммуногенным потенциалом, для использования их в качестве компонентов функционального и специализированного питания требуется проведение глубокого гидролиза, обеспечивающего расщепление основных белковых фракций до низкомолекулярных пептидов и свободных аминокислот [36,37]. Включение в рецептуру гидролизатов молочных белков улучшает текстуру и органолептические свойства йогуртов и положительно влияет на жизнеспособность пробиотиков [38].

2) производство косметической продукции. Белковые гидролизаты используют в качестве биологически активных соединений в косметических продуктах для регулярного ухода и в декоративной косметике [39,40].

3) корма сельскохозяйственных животных. Белковые гидролизаты, входящие в состав кормов в виде премиксов или жидких кормовых добавок, значительно улучшают биологическую ценность готовых кормов. Они хорошо усваиваются и лишены антиалиментарной активности [41].

4) в качестве компонентов питательных сред для микробиологических производств. Гидролизаты белка используют в качестве источника аминокислот азота в составе различных питательных сред для культивирования определенных микроорганизмов [42,43].

В настоящее время наибольшее применение белковые гидролизаты находят в производстве пробиотиков для пищевой, фармацевтической и кормовой отраслей; микробиологических удобрений; стартовых культур для молочной и мясной промышленности; ферментов и вакцин; биопроductов для очистки индустриальных и бытовых сточных вод.

Все исследования как отечественных, так и зарубежных авторов направлены на научное обоснование применения ферментативного катализа и на расширение спектра возможных областей применения ферментативных гидролизатов, полученных из сырья животного и растительного происхождения, в первую очередь, из вторичных продуктов их переработки. При этом в большинстве случаев исследователи оценивают эффективность сразу нескольких ФП, а также композиций на их основе, понимая, что имеют дело с гетерогенным субстратом, и рассчитывая на определенный синергетический эффект [25,44,45].

3.2. Получение белковых гидролизатов: научно-обоснованные подходы

Ферментативная модификация белков растительного сырья, в том числе белков зерновых и бобовых культур, представляет собой важный этап в перспективных технологиях глубокой переработки

¹ СИМБИО — <https://symbiotech.ru/fermentativnye-gidrolizaty-belkov>

растительного сырья. Ферментативный способ модификации растительных белков, особенностями которого являются мягкие режимы проведения реакций, возможность регулирования степени гидролиза, определенная направленность и сохранение биологической ценности, предпочтительнее физико-химической модификации и в настоящее время широко изучается [4,46,47].

В зависимости от целей существует по меньшей мере два подхода к получению белковых гидролизатов: первый — выделение белка, его очистка от балластных соединений и дальнейший гидролиз; второй — получение гидролизатов без предварительного выделения белка. В первом случае получаемые гидролизаты имеют достаточно высокую степень очистки от сопутствующих компонентов, хорошие перспективы использования в пищевой промышленности и высокий функциональный потенциал, в частности, при создании специализированных продуктов для детского и геронтологического питания. Во втором случае получаемые гидролизаты сохраняют весь фитопотенциал исходного сырья и представляют продукт с различной степенью гидролиза не только белков, но и некрахмальных полисахаридов (клетчатки, гемицеллюлозы, пектиновых веществ), а также фитина (инозитолгексафосфорная кислота) в зависимости от специфичности применяемых ферментных препаратов и условий проведения ферментативной реакции. В этом случае продуктами гидролиза будут зерновые гидролизаты и структурно-модифицированные продукты переработки зерна (разных видов муки, отрубей) с определенными функционально-технологическими и функциональными свойствами. Их использование возможно по нескольким направлениям: в качестве обогаителей пищевых продуктов и кормов, как источники азотного и фосфорного питания дрожжей в технологиях брожения, как компоненты питательных сред для культивирования микроорганизмов-продуцентов различных биологически активных веществ (ферментов, аминокислот, органических кислот, витаминов и др.).

Установлено, что для применения белковых гидролизатов не всегда требуется высокая степень гидролиза, поскольку пептиды достаточно хорошо усваиваются организмом человека [5,8]. В основе деления гидролизатов белков на две группы лежит наиболее важный критерий, а именно глубина гидролиза, следствием которого являются те или иные свойства получаемых продуктов гидролиза; последние, в свою очередь, определяют область их применения. Гидролизаты 1-й группы (полностью гидролизованные белки) содержат свободные аминокислоты и короткие пептиды, характеризуются низкой антигенной активностью и могут быть использованы в гипоаллергенных диетах. Гидролизаты 2-й группы (частично гидролизованные белки) содержат широкий спектр продуктов гидролиза: фракция свободных аминокислот и коротких пептидов; достаточно большое количество олигопептидов и высокомолекулярных продуктов гидролиза. Гидролизаты, относящиеся к этой группе, используют в качестве легкоусвояемого источника аминокислот азота в специализированных диетах [2,8,12].

Для ферментативной модификации основных биополимеров зернового сырья, в том числе и зерновых отрубей, применяют ферментные препараты животного, растительного, но чаще микробного происхождения с различной специфичностью действия. В результате ферментативной модификации значительно повышается уровень перехода компонентов сырья в растворимое состояние [46,47]. При этом могут быть получены продукты гидролиза с заданным составом, например, с определенным профилем пептидов и набором аминокислот, обладающие специфическими свойствами [25,48].

Большое количество публикаций, посвященных поиску продуцентов ферментов, их выделению [49,50], оптимизации условий проведения ферментативного гидролиза и их использования для получения зерновых гидролизатов [10,51], связано с исследованиями, проводимыми во ВНИИ пищевой биотехнологии — филиала ФИЦ питания и биотехнологии (ВНИИПБТ, Москва).

Под руководством профессора, доктора химических наук Синицына А. П. [50,51] проведены исследования по созданию и оценке эффективности отечественных ферментных препаратов нового поколения.

Установлено, что эффективность гидролиза зернового сырья (ржи, пшеницы, тритикале, зерновой послеспиртовой барды) комплексным ФП Пенициллопепсин, обладающим протеолитической и гемицеллюлолитической (ксилазной) активностью, выше по сравнению с концентрированными коммерческими препаратами ксиланазой (Палпфор 2) и кислой протеазой (Acid Protease). Это свидетельствует о целесообразности применения Пенициллопепсина при производстве кормов на основе зерновых культур [10].

Кроме этого, в Федеральном исследовательском центре биотехнологии РАН совместно с ООО «Агрофермент» разработаны новые ферментные препараты: Агроксил премиум (АКС) и Агроцелл плюс (АЦ) [11], а также Агросил плюс [9], обладающие целлюлазной и кси-

лазанной активностью и способные эффективно расщеплять некрахмальные полисахариды зерновых культур и повышать перевариваемость и усвоение кормов [50].

Помимо ферментных препаратов, хорошо зарекомендовавших себя в кормопроизводстве, разработаны и апробированы ФП нового поколения для соковой [6] промышленности и виноделия [7].

Вопросы, связанные с поиском новых продуцентов липаз и протеаз, а также сырья для культивирования микроорганизмов, изучены в работе ученых ВНИИ пищевых добавок — филиала ФНЦ пищевых систем им. В. М. Горбатова РАН (Санкт-Петербург). Авторы отмечают, что рапсовый жмых, содержащий более 10% жира и 32–45% протеина, может являться субстратом для биосинтеза ферментов липолитического и протеолитического действия [45].

3.3. Ферментативные гидролизаты, полученные с предварительным выделением белка

К первому подходу получения белковых гидролизатов, который заключается в выделении белка, его очистке и дальнейшем гидролизе, следует отнести работы, связанные с получением гидролизатов клейковинных белков.

В работе [52] ученые НИЦ «Курчатовский институт» — ГосНИИ-генетика (Москва) отмечают, что традиционное использование пшеничной клейковины (глютена) — обогащение слабой по силе муки при производстве хлеба и хлебобулочных изделий. Расширить область применения клейковины возможно с помощью ее модификации, в том числе и ферментативной. Гидролизаты клейковины, полученные с помощью протеолитических ферментов, обладают рядом преимуществ по сравнению с негидролизованной клейковиной. Они характеризуются большей растворимостью, лучшей усвояемостью — глубокий гидролиз клейковины позволяет получить свободные аминокислоты, которые можно использовать в спортивном и диетическом питании. Высокая пенообразующая способность и стабильность пены получаемых гидролизатов — свойства, которые важны не только при производстве продуктов питания, но и при создании биоразлагаемых пеноматериалов.

Антиоксидантные, гепатопротекторные свойства, способность к ингибированию ангиотензинпревращающего фермента, которыми, как показали результаты исследования, обладают определенные фракции гидролизатов клейковинных белков, дают основание прогнозировать еще одно направление возможного использования гидролизатов клейковины — производство лекарственных препаратов.

В других работах отечественных и зарубежных исследователей [53,54] отмечается, что поиск протеолитических ферментов, выбор их комбинаций, а также оптимизация технологического процесса позволяют получить продукты гидролиза клейковинных белков с требуемыми характеристиками, расширить сферу их применения в промышленности и снизить себестоимость процесса.

Исследователи Стамбульского технического университета (Стамбул, Турция) исследовали влияние различных типов протеолитических ферментов (Flavourenzyme, Savinase, Subtilin and Savinase) на технологические и биоактивные свойства гидролизата глютенина. Авторы отмечают, что степень гидролиза белков глютенина различалась в зависимости от типа фермента: в целом, гидролизаты с низкой степенью гидролиза обладали лучшими технологическими свойствами (жиропоглощающая способность, гидрофобность, эмульгирующая способность и стабильность эмульсии) по сравнению с гидролизатами с более высокой степенью гидролиза. Кроме того, антиоксидантная способность глютенина значительно увеличилась в результате ферментативного гидролиза [53].

Ученые ВНИИ пищевой биотехнологии — филиала ФИЦ питания, биотехнологии и безопасности пищи и ФИЦ «Фундаментальные основы биотехнологии» РАН в своей работе [54] обращают внимание на то, что ферментативные гидролизаты пшеничной клейковины, являясь источником незаменимых аминокислот и биоактивных пептидов, широко используются в качестве пищевых добавок и усилителей вкуса. Глубокий ферментативный гидролиз способствует снижению аллергенности клейковинных белков, которая связана с высоким содержанием пролина, поскольку пептидные связи с его участием не поддаются гидролизу пищеварительными ферментами. При этом он в целом повышает их биологическую ценность и расширяет область применения в пищевой промышленности.

Исследование комплексного ФП, содержащего эндо- и экзопептидазы, показало, что эффективный гидролиз клейковины обеспечивается за счет их синергетического действия. Протооризин LAP успешно заменял совместное действие ФП Flavourenzyme 1000L и Alcalase 2.4L, что показывает перспективность его использования при получении гидролизатов пшеничной клейковины.

Некоторые отечественные [55] и зарубежные [56] ученые в своих исследованиях отмечают, что плохая растворимость в воде, эмульгирующие и пенообразующие свойства глютеинового белка ограничивают его применение. Структура клейковины поддерживается ковалентными (дисульфидные связи) и нековалентными связями (водородные, ионные, гидрофобные связи), которые подвержены изменениям при различных обработках. Модификация под действием ферментов способна изменять определенные свойства клейковины и косвенно оказывать влияние на реологические свойства теста, улучшая его качество. В работах исследуется влияние некоторых гидролитических ферментов (протеазы и пептидазы, ксиланазы и целлюлазы) на реологические, функциональные, конформационные свойства клейковины и теста, а также рассматривается возможность использования протеолитических ферментных препаратов и ферментативных гидролизатов клейковины в составе комплексной терапии целиакии.

Исследователи Московского государственного университета пищевых производств (ныне «РОСБИОТЕХ», Москва) предложили несколько вариантов получения гидролизата белка из рисовой муки. В предложенных способах на этапе экстракции были применены ФП ксиланазы и амилазы с последующим использованием эндопротеазы или смеси эндо- и экзопротеаз². Изучение действия экзо- и эндопротеиназ при гидролизе сухой пшеничной клейковины выявило следующие закономерности: чем крепче клейковина, тем глубже протекал ее гидролиз под действием эндопротеиназы (Neutrase 1,5; Protamex), а для более слабой клейковины эффективнее оказывалось действие комплекса эндопротеаз и экзопептидаз препарата Flavourzyme 500 [57].

Интерес представляет публикация ученых Российской химико-технологического университета имени Д. И. Менделеева (Москва), которые целью своей работы поставили подбор условий получения белковых изолятов и ферментативных гидролизатов, обладающих заданными функциональными свойствами, из различных видов растительного сырья. Авторам удалось достичь 90%-го выхода белковых веществ из льняной, кукурузной, овсяной и гороховой муки и обеспечить максимальную полноту гидролиза с использованием ферментного препарата Панкреатин. Наилучшими эмульгирующей и пенообразующей способностями обладали льняные гидролизаты после 60 и 90 мин гидролиза соответственно [58].

На основе методов математического планирования исследователи Восточно-Сибирского государственного университета технологий и управления (Улан-Удэ, Россия) определили оптимальные показатели процесса ферментативной конверсии изолята соевого белка с использованием ферментных препаратов пищеварительных протеиназ — пепсина и трипсина. Были изучены два параметра ферментативной конверсии соевого белка (соевый изолят, Китай): время гидролиза и фермент-субстратное соотношение. Оптимизацию результатов проводили с применением методологии поверхности отклика в профессиональной программе MathCad 15. Выявленные оптимальные технологические параметры одно- и двухстадийного процесса гидролиза позволили получить гидролизат со степенью гидролиза 88%. Наибольшая суммарная антиоксидантная активность была отмечена через 5 ч гидролиза и составила около 250 мг/100 мл. Дальнейшие исследования будут направлены на изучение остаточной антигенности гидролизата и других показателей его функциональной активности [26].

Исследователи Цзянсунского университета (Цзянсу, КНР) изучали физико-химические и антиоксидантные свойства гидролизатов белков бобов маша. Полученный белковый изолят гидролизовали коммерческими препаратами фицина и бромелаина, использование последнего демонстрирует большую глубину гидролиза. Кроме того, установлено, что гидролизаты белка бобов маша проявляют способность снижать окисления липидов, что может быть полезно в пищевой промышленности для производства обогащенных пищевых продуктов [59].

Большая обзорная статья, опубликованная учеными ВНИИПБТ, включает теоретические основы ферментативного гидролиза белков животного и растительного происхождения протеолитическими ферментами разной специфичности действия. Обоснована целесообразность ферментативной обработки протеазами основных видов вторичного белоксодержащего сырья для снижения их антигенности и устранения антиалиментарных свойств. Это также позволяет улучшить функциональные и органолептические показатели для применения в производстве специализированных пищевых продуктов лечебного и профилактического питания [60].

В одной из последних обзорных публикаций [47] учеными ВНИИ крахмала и переработки крахмалсодержащего сырья — филиала Федерального исследовательского центра картофеля имени А. Г. Лорха (ВНИИК, Московская область) систематизированы исследования отечественных и зарубежных ученых, касающиеся получения пищевых белковых препаратов из различных видов растительного сырья, различными способами их модификации, а также взаимосвязи функционально-технологических свойств со структурными и физико-химическими особенностями белков. В обзоре подчеркивается, что функциональные свойства белков могут быть улучшены с помощью различных биотехнологических модификаций, в том числе за счет ограниченного протеолиза с ФП животного (Трипсин, Химотрипсин, Пепсин) [61–63], растительного (Папаин, Бромелаин) [64–66] или микробиологического (Алкалаза, Флавозим, Протацид и др.) происхождения [64,67]. В качестве субстрата были использованы белки гороха [61,62], конских бобов [67], овса, овсяных отрубей [62,64], арахиса [65], люпина [66], нута [68]. Анализ экспериментальных исследований, отраженных в публикациях, позволил авторам сделать следующее заключение: свойства гидролизатов зависят от степени гидролиза, от вида ферментов (эндо-, экзопротеазы) и от природы субстрата. Результатом гидролиза наряду со снижением молекулярных масс является увеличение ионизированных групп или гидрофобных участков, что при определенной глубине гидролиза положительно отражается на растворимости и на других функционально-технологических свойствах, таких как водосвязывающая (ВСС) и жиросвязывающая (ЖСС) способности, а также жироземмулирующая (ЖЭС) и пенообразующая способности (ПОС) [47].

В работах [69,70] отмечен еще один важный аспект, связанный с действием микробных ферментных препаратов. Некоторые белковые гидролизаты приобретают горький вкус из-за высвобождения пролина и гидрофобных аминокислот, поэтому важной биотехнологической задачей является разработка способов уменьшения или полного нивелирования горечи. Авторы полагают, что одним из путей решения этой проблемы является использование специфических пролилэндопептидаз (сериновые протеиназы), которые способны к ограниченному протеолизу по пролил-лейциновым пептидным связям и остаткам гидрофобных аминокислот.

При гидролизе соевых бобов ферментные препараты Алкалаза, Пепсин, Папаин и Флавозим наиболее эффективно расщепляли белки до низкомолекулярных пептидов. При этом гидролизаты, полученные с помощью Алкалазы, характеризовались наибольшей горечью, умеренная горечь наблюдалась при использовании Corolase 2TS, Corolase 7089 и Нейтразы. Использование Флавозима и Папаина позволило получить гидролизаты с наименьшей горечью, а гидролиз под действием Пепсина увеличивал пенообразующую способность гидролизатов в 35 раз [69,71].

Ферментативные гидролизаты семян конопли активно изучаются в связи с широким спектром биологического действия. Это нашло отражение в аналитическом обзоре исследователей Российского биотехнологического университета («РОСБИОТЕХ», Москва) и ученых ФНЦ пищевых систем им. В. М. Горбатова РАН (Москва), посвященном способам переработки и получению белка из семян и жмыха промышленной конопли для использования в пищевой промышленности [46].

Зарубежными учеными в гидролизатах семян конопли обнаружены биологически активные пептиды, проявляющие сильные антиоксидантные свойства [72], антигипертензивную активность [73], а также ингибирующую активность по отношению к α -глюкозидазе, что замедляет образование и всасывание глюкозы [74]. Кроме того, некоторые пептиды обладают способностью ингибировать ацетилхолинэстеразу (АХЭ), чрезмерно высокая активность которой характерна для нейродегенеративных процессов [75].

Гидролизаты белка конопли, содержащие биологически активные пептиды, также обладают несколькими регуляторными эффектами, включая иммуномодулирующее действие, противовоспалительные эффекты и положительное влияние при нарушениях липидного обмена [75]. Авторы обзорной публикации [46] отмечают, что использование гидролизатов белка конопли открывает новые возможности для производителей, позволяя создавать инновационные продукты, обладающие высокой биологической ценностью.

3.4. Ферментативные гидролизаты, полученные без предварительного выделения белка

Второй подход к получению ферментативных гидролизатов — это получение гидролизатов без предварительного выделения белка. Такой подход применяется в первую очередь к растительному сырью и позволяет сохранить весь фитопотенциал. При этом он дает возможность проводить ферментативный гидролиз сразу по

² Патент РФ. № 2012147113. Колпакова, В. В., Фан Куинь Чам, Чумкина, Л. В. Способ получения гидролизата белка из рисовой муки (варианты). Опубликовано 20.05.2014. Бюл. № 14.

нескольким направлениям, используя композиции ферментных препаратов различной специфичности действия — например, амилолитического, целлюлолитического, протеолитического и фитазного — для повышения степени и глубины гидролиза за счет синергетического эффекта.

В связи с этим очевидную актуальность представляют собой исследования по разработке способов ферментативной модификации зернового сырья: злаковых, бобовых, масличных культур, а также зерносмесей на их основе и вторичных продуктов их переработки. Это нашло отражение в широком спектре публикаций по этому вопросу.

В работе российских ученых (ВНИИПБТ и ФИЦ «Фундаментальные основы биотехнологии» РАН) экспериментально установлено положительное действие фитаз при воздействии на зерновое сырье, которое проявляется в увеличении количества свободных фосфат-ионов, улучшении перевариваемости кормов, повышении мясной продуктивности животных и птицы. Авторы отмечают, что совместное действие фитолитических и протеолитических ферментов на полимеры зерна пшеницы и кукурузы способствует получению обогащенного зернового сусла с хорошими реологическими свойствами. Обработка зерна комплексом ферментов, который наряду с α -амилазой (Amylex 5T, Genencor, США), глюкоамилазой (Diazyme X5, Genencor, США) и ксиланазой (TegazymeRT 75L, Lyven SA, Франция) включал фитазу (Phytaflow, Novozymes, Дания) и протеазы (Протоолизин, ВНИИПБТ, Россия), способствовала повышению степени каталитической деструкции. В пшеничном и кукурузном сусле концентрация редуцирующих углеводов увеличилась на 16,8 и 18,8%, аминного азота — в 1,7 и 1,9 раза, вязкость снизилась на 41,7 и 44,7% [76].

Исследователями Омского государственного аграрного университета им. П. А. Столыпина (ОГАУ, Омск) и Алтайского государственного технического университета им. И. И. Ползунова (АГТУ, Барнаул) было изучено комплексное воздействие ФП: ГлюкоЛюкс А (1%), АмилоЛюкс АТС (0,5%), ЦеллоЛюкс А (0,5%) и Протеаза кислая и Биоферм (39,52 мг/г сырья) на биополимеры пшеничных отрубей. Установлено, что композиция ферментных препаратов на основе АмилоЛюкс АТС, Биоферм и препарата Протеаза кислая способствует образованию в гидролизатах растворимых белковых соединений [77].

В исследовании [78] представлена разработанная комплексная биотехнология получения функциональных ингредиентов с антиоксидантной и пребиотической активностью путем биопреобразования пшеничных и ржаных отрубей ферментными препаратами гидролаз разной специфичности действия. Авторы отмечают, что побочные продукты переработки зерна — отруби, мука и зародыш — гораздо лучше соответствуют требованиям, предъявляемым к функциональным продуктам, чем мука. Эти продукты могут служить основой для получения новых функциональных ингредиентов, таких как углеводно-белковые концентраты, пищевые волокна, биологически активные вещества, полифенолы и ксилоолигосахариды.

Учеными ВНИИ зерна и продуктов его переработки (ВНИИЗ, Москва) проведены исследования и разработаны способы ферментативной модификации различных видов отрубей: пшеничных и ржаных [25], тритикалевых [24], пшенично-льняных [27], пшенично-чечевично-льняных [48] с использованием широкого спектра зарубежных и отечественных ферментных препаратов протеолитического и целлюлолитического действия.

В своей работе исследователи ВНИИЗ [79] обращают внимание на важность правильного подхода к работе с ферментами, ферментными препаратами и их композициями: во-первых — изучение химического состава и биохимических особенностей природных субстратов; во-вторых — выявление оптимальных условий действия ФП на стандартный и природные субстраты на основе изучения основных кинетических характеристик ФП и эффективности их действия (способности активно гидролизовать соответствующие субстраты — белки, некрахмальные полисахариды, фитин) при оптимальных условиях; в-третьих — создание мультиэнзимных композиций (МЭК) с учетом специфичности действия, оптимумов pH, температуры и эффективности; в-четвертых — оценка степени автолитических процессов под действием собственных (эндогенных) ферментных систем и возможности синергетического эффекта при действии ФП разной специфичности (например, ФП целлюлолитического и протеолитического действия).

Особый интерес представляют экспериментальные данные по ферментативной модификации двух- и трехкомпонентных отрубей. Уникальный состав комбинированных отрубей, полученных при совместном размоле зерносмесей, свидетельствует о возможности их использования не только как обогащающего компонента при создании новых сбалансированных продуктов, в первую очередь, на зерновой

основе, но и для дальнейшей глубокой переработки с использованием методов ферментативного катализа [80,81].

Как отмечают авторы, на основе полученных данных по основным кинетическим характеристикам и эффективности действия отдельных ферментных препаратов на пшенично-льняные отруби были разработаны 7 вариантов мультиэнзимных композиций. Они показали высокую эффективность при действии на биополимеры пшенично-льняных отрубей, превосходящую эффективность отдельных ферментных препаратов. Это связано с последовательным действием целлюлолитических и протеолитических ферментных препаратов, деградацией некрахмальных полисахаридов, что повышает доступность белков для действия протеолитических ферментов. Полученные данные по функционально-технологическим свойствам биомодифицированных отрубей свидетельствуют об их зависимости от состава МЭК, что дает возможность прогнозировать и регулировать их свойства для целенаправленного использования в различных пищевых технологиях [27].

Известно, что зерновое сырье, особенно зерновые отруби, содержат значительное количество фитина, который первоначально сосредоточен в периферийной части зерновки и переходит в отруби при переработке зерна на мукомольных предприятиях. В связи с этим при получении зерновых гидролизатов из цельнозернового зерна, одно- и поликомпонентных отрубей целесообразно наряду с целлюлолитическими и протеолитическими ФП использовать ФП фитазы, гидролизующий фитин. В этом случае обеспечивается переход фитина в растворимую форму (фосфат-ионы), что положительно сказывается на их усвоении дрожжами рода *Saccharomyces*. Таким образом можно достичь сбалансированного азотистого и фосфорного питания для дрожжей, что приводит к интенсификации процессов в технологиях брожения [25,44,48].

Совместные исследования ВНИИЗ и ВНИИ пивоваренной, безалкогольной и винодельческой промышленности (ВНИИПБиВП, Москва), проведенные на однокомпонентных (пшеничные, ржаные) [25] и поликомпонентных отрубях (пшенично-льняных, пшенично-чечевично-льняных) [48] с использованием двух вариантов МЭК показали, что количество редуцирующих веществ с использованием МЭК возросло в 2,3–3,5 раза; растворимого белка — в 3–6,4 раза; фосфат-ионов — в 3 раза по отношению к соответствующему контролю. Методом гель-хроматографии установлено значительное (в 3–4 раза) повышение доли низкомолекулярных пептидов и аминокислот (М. м. < 1000 Да). Концентрация наиболее ценных для азотного питания дрожжей аминокислот — аспарагиновой кислоты и аргинина — в опытных гидролизатах одно- и трехкомпонентных отрубей (по данным ВЭЖХ) повышалась в среднем в 2,5–3 раза, а валина — в 4–5 раз по сравнению с исходным сырьем. Содержание гистидина и изолейцина в этих образцах увеличивалось в 2–2,5 раза. Это позволило авторам позиционировать полученные таким образом зерновые гидролизаты как альтернативу импортным активаторам брожения на основе автолизатов осадочных дрожжей [25,48].

Действие мультиэнзимных композиций, включающих ферментные препараты целлюлолитического, протеолитического и фитазного действия, было исследовано при использовании в качестве субстрата цельнозерновых семян сои, гороха, нута и чечевицы [82].

Включение семян бобовых культур и продуктов их переработки в рецептуру хлебобулочных и мучных кондитерских изделий обусловлено, прежде всего, богатым составом этих семян, содержащих необходимый для организма комплекс макро- и микронутриентов. Кроме того, это связано с растущим спросом на вегетарианские и веганские продукты, а также с разработкой специализированной продукции для потребителей с целиакией и сахарным диабетом 2-го типа, для которых мучные изделия из пшеничной муки высшего сорта запрещены или существенно ограничены по медицинским показаниям [83–85].

В то же время в семенах бобовых культур содержатся мощные белковые ингибиторы пищеварительных ферментов (химотрипсина, трипсина, α -амилазы), лектины — гликопротеиды, способные нарушать всасывание нутриентов и вызывать агрегацию эритроцитов крови, фитин — деминерализующий фактор, способный необратимо связывать ионы кальция, магния, железа, цинка и меди. Эти соединения принято относить к антиалиментарным факторам питания. Ферментативная модификация семян бобовых культур с использованием композиций ферментных препаратов разной специфичности действия позволяет не только сохранить фитопотенциал исходного сырья, но и устранить негативное влияние антиалиментарных компонентов [26,86,87].

Результаты проведенных исследований выявили увеличение количества редуцирующих веществ, растворимого белка и растворимого фосфора в исследуемых гидролизатах по сравнению

с автолизатами всех исследуемых культур. Наибольшее увеличение доли растворимых веществ отмечено в гидролизатах чечевицы: РВ — в 3–3,5 раза; растворимого белка — в 4–5,8 раза. Доля растворимого фосфора увеличилась в среднем в 3,6 раза. Наименьшее увеличение при использовании исследуемых МЭК выявлено в гидролизатах сои: РВ — в 2 раза, растворимого белка — в 2,5–3 раза, растворимого фосфора — в среднем в 2,5 раза.

Оценка продуктов протеолиза ферментативных гидролизатов, полученных с использованием МЭК методом гель-хроматографии, дала следующие результаты: соотношения фракций продуктов протеолиза с различной молекулярной массой зависят как от субстрата (вида бобовой культуры), его доступности для протеолитических ферментов, так и от используемого протеолитического ФП, входящего в состав МЭК. Наибольшее количество низкомолекулярных продуктов протеолиза отмечено в гидролизатах чечевицы, полученных с использованием МЭК 1–28,78% и МЭК 2–28,80% от общего количества. Наименьшее количество низкомолекулярных азотистых соединений отмечено в гидролизатах гороха (19,28%) и нута (18,87%), полученных с использованием МЭК 1. Показано существенное снижение активности белковых ингибиторов трипсина в исследованных гидролизатах [82]. Таким образом, использование композиций ферментных препаратов обеспечивает синергетический эффект и глубину гидролиза.

Роль фитазы (ФП Агрофит), вероятно, связана с тем, что гидролиз фитина с образованием инозитола и фосфат-ионов, во-первых, высвобождает часть белков и гемицеллюлоз из связанного состояния (сложные конгломераты комплексов фитат-белок и фитат-углеводные комплексы), что делает их более доступными для действия целлюлолитических и протеолитических ферментов; во-вторых, фитиновая кислота является ингибитором многих ферментов, поэтому ее гидролиз обеспечивает также сохранение эффективности действия ФП без увеличения вносимой дозировки. Кроме того, фитин, благодаря многоступенчатой диссоциации, проявляет свойства как сильных, так и очень слабых кислот. В нейтральной среде фосфатные группы фитиновой кислоты диссоциируют лишь частично, приобретая один или два отрицательных заряда.

Продукты гидролиза фитина: инозитол как многоатомный спирт обладает слабокислой реакцией; фосфат-ионы, в зависимости от того, с каким катионом они вступят в реакцию, могут проявлять как слабощелочные, так и слабокислые свойства. В гетерогенной среде при ферментативном гидролизе зерновых отрубей они дополнительно увеличивают буферную емкость инкубационной смеси и стабилизируют условия для действия ферментных препаратов.

Полученные результаты позволили авторам сформулировать возможные области применения полученных гидролизатов: во-первых,

в технологиях брожения в качестве активаторов дрожжей [25,48]; во-вторых, в качестве обогащающих компонентов в широком спектре пищевых продуктов [82].

В Северо-Кавказском федеральном университете (СКФУ, Ставрополь) исследовали способы получения ферментативных гидролизатов обезжиренной соевой муки и кукурузного глютенa с использованием комплекса ферментных препаратов Протосубтилин ГЗХ, ЦеллоЛюкс Ф, Панкреатин отечественного производства. Авторы, оценивая полученные результаты, пришли к выводу, что применение комплексного ФП с протеолитическим и целлюлолитическим действием дает наилучший результат — повышает степень ферментативного гидролиза белков за счет их высвобождения из связанного состояния и способствует повышению пищевой ценности получаемых гидролизатов. В заключение авторы отмечают, что модификация белковых систем за счет применения специфических ферментов — один из эффективных путей рационального использования вторичного сырья [88].

4. Выводы

Анализ предметного поля, представленный в обзоре, подтверждает актуальность исследований в этой области, причем особое внимание ученых сосредоточено на растительном сырье — в частности, на зерновых культурах как возобновляемом ресурсе с более низкой себестоимостью по сравнению с продуктами животноводства.

В работах, представленных в публикациях, изучен широкий спектр ферментных препаратов отечественного и зарубежного производства (целлюлолитического, протеолитического, фитазного, амилотического и липолитического действия), а также их композиции как инструментарий для направленного биокатализа и получения гидролизатов с заданными функционально-технологическими свойствами. В ряде случаев такие гидролизаты содержат биологически активные пептиды, обладающие значительным фармакологическим потенциалом.

Сформированный за десятилетие значительный научный потенциал окажется полезным специалистам не только для планирования дальнейших исследований, но и для решения конкретных экспериментальных и практических задач в этой области. Он обеспечит переход к следующему этапу — масштабированию научных разработок в реальных производственных условиях. Обзор будет полезен специалистам, работающим в области переработки зерна, биохимикам, энзимологам, специалистам в области ферментативного катализа и производителям пищевых продуктов специализированного и функционального направления, готовым к внедрению инновационных разработок.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК / REFERENCES

- Choi, J.-M., Han, S.-S., Kim, H.-S. (2015). Industrial applications of enzyme biocatalysis: Current status and future aspects. *Biotechnology Advances*, 33(7), 1443–1454. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2015.02.014>
- Bilal, M., Iqbal, H. M. N. (2020). State-of-the-art strategies and applied perspectives of enzyme biocatalysis in the food sector — current status and future trends. *Critical Reviews. Food Science and Nutrition*, 60(12), 2052–2066. <https://doi.org/10.1080/10408398.2019.1627284>
- Толкачева, А. А., Черенков, Д. А., Корнеева, О. С., Пономарев, П. Г. (2017). Ферменты промышленного назначения — обзор рынка ферментных препаратов и перспективы его развития. *Вестник Воронежского государственного университета инженерных технологий*, 79(4), 197–203. [Tolkacheva, A. A., Cherenkov, D. A., Korneeva, O. S., Ponomarev, P. G. (2017). Enzymes of industrial purpose — review of the market of enzyme preparations and prospects for its development. *Proceedings of the Voronezh State University of Engineering Technologies*, 79(4), 197–203. (In Russian)] <https://doi.org/10.20914/2310-1202-2017-4-197-203>
- Римарева, Л. В., Серба, Е. М., Соколова, Е. Н., Борщева, Ю. А., Игнатова, Н. И. (2017). Ферментные препараты и биокаталитические процессы в пищевой промышленности. *Вопросы питания*, 86(5), 63–74. [Rimareva, L. V., Serba E. M., Sokolova E. N., Borshcheva Yu. A., Ignatova N. I. (2017). Enzyme preparations and biocatalytic processes in the food industry. *Problems of Nutrition*, 86(5), 63–74. (In Russian)] <https://doi.org/10.24411/0042-8833-2017-00078>
- Болтовский, В. С. (2021). Ферментативный гидролиз растительного сырья: состояние и перспективы. *Известия Национальной академии наук Беларуси. Серия химических наук*, 57(4), 502–512. [Boltovskoy, V. S. Enzymatic hydrolysis of plant raw materials: State and prospects. *Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Chemical Series*, 57(4), 502–512 (In Russian)] <https://doi.org/10.29235/1561-8331-2021-57-4-502-512>
- Волчок, А. А., Бушина, Е. В., Рожкова, А. М., Зоров, И. Н., Щербаков, С. С., Синицын, А. П. (2013). Ферментные комплексы нового поколения для соковой промышленности. *Биотехнология*, 5, 78–89. [Volchok, A. A., Bushina, E. V., Rozhkova, A. M., Zorov, I. N., Shcherbakov, S. S., Sinitsyn, A. P. (2013). New generation enzyme complexes for juice production. *Biotechnologia*, 5, 78–89. (In Russian)]
- Волчок, А. А., Рожкова, А. М., Зоров, И. Н., Синицын, А. П., Бушина, Е. В., Щербаков, С. С. (2014). Предобработка виноградной мезги ферментами нового поколения при изготовлении столовых вин. *Виноделие и виноградарство*, 1, 36–39. [Volchok, A. A., Rozhkova, A. M., Zorov, I. N., Sinitsyn, A. P., Bushina, E. V., Shcherbakov, S. S. (2014). Pretreatment of grape pulp by enzymes of new generation in the table wines manufacturing. *Winemaking and Viticulture*, 1, 36–39. (In Russian)]
- Абрамова, И. М., Серба, Е. М. (2019). Биотехнологические процессы в производстве продуктов питания и кормов. *Пищевая промышленность*, 4, 12–14. [Abramova, I. M., Serba, E. M. (2019). Biotechnological processes in the production of food and feed. *Food Industry*, 4, 12–14. (In Russian)] <https://doi.org/10.24411/0235-2486-2019-10001>
- Ниязов, Н. С.-А., Кержнер, М. А., Моисеев, П. А., Зоров, И. Н., Рожкова, А. М., Синицын, А. П. (2018). Ферментный препарат «Агроксил Премиум» в комбикормах для свиней: эффективность от использования. *Свиноводство*, 5, 25–27. [Niyazov, N. S.-A., Kerzhner, M. A., Moseev, P. A., Zorov, I. N., Zhkova A. M., Sinitsyn, A. P. (2018). The effectiveness of the use of the enzyme preparation Agroxyl Premium in compound feeds for pigs during rearing. *Pigbreeding*, 5, 25–27. (In Russian)]
- Великоретская, И. А., Серба, А. С., Костылева, Е. В., Веселкина, Т. Н., Пурикова, Н. В., Синицын, А. П. (2016). Эффективность комплексного ферментного препарата Пенициллопепсин как добавки для кормов на основе зерновых культур. *Хранение и переработка сельхозсырья*, 1, 27–31. [Velikoretskaya, I. A., Sereda, A. S., Kostyleva, E. V., Veselkina, T. N., Tsurikova, N. V., Sinitsyn, A. P. (2016). Efficacy of the complex enzyme preparation PENICILLOPEPSIN as an additive for grain-based feed. *Storage and Processing of Farm Products*, 1, 27–31. (In Russian)]
- Соколова, Е. Н., Шариков, А. Ю., Юраскина Т. В., Серба Е. М. (2022). Протеолиз белковых компонентов растительного сырья с высоким аллергенным потенциалом. *Вестник КрасГАУ*, 10, 207–214. [Sokolova, E. N., Sharikov, A. Yu., Yuraskina, T. V., Serba, E. M. (2022). Protein components proteolysis of plant raw materials with high allergenic potential. *Bulliten KSAU*, 10, 207–214. (In Russian)] <https://doi.org/10.36718/1819-4036-2022-10-207-214>
- Зорин, С. Н. (2019). Ферментативные гидролизаты пищевых белков для специализированных пищевых продуктов диетического (лечебного и профилактического) питания. *Вопросы питания*, 88(3), 23–31. [Zorin, S. N. (2019).

- Enzymatic hydrolysates of foods for therapeutic and prophylactic nutrition. *Problems of Nutrition*, 88(3), 23–31. (In Russian)] <https://doi.org/10.24411/0042-8833-2019-10026>
13. Асланова, М. А., Дыдыкин, А. С., Солдатова, Н. Е. (2018). Получение белкового гидролизата из сырья животного происхождения для обогащения продуктов. *Пищевая промышленность*, 2, 16–18. [Aslanova, M. A., Dydykin, A. S., Soldatova, N. E. (2018). Preparation of protein hydrolyzate from raw materials of animal origin for the enrichment of products. *Food Industry*, 2, 16–18. (In Russian)]
 14. Самойлов, А. В., Сураева, Н. М., Зайцева, М. В., Дыдыкин, А. С., Асланова, М. А., Деревицкая, О. К. (2023). Подходы к оценке антиоксидантных свойств пищевого ферментативного гидролизата белка животного происхождения методом биотестирования. *Пищевая промышленность*, 10, 90–95. [Samoylov, A. V., Surayeva, N. M., Zaytseva, M. V., Dydykin, A. S., Aslanova, M. A., Derevitskaya, O. K. (2023). Approaches to the evaluation of the antioxidant properties of food enzymatic protein hydrolyzate of animal origin with bioassay. *Food Industry*, 10, 90–95. (In Russian)] <https://doi.org/10.52653/PPI.2023.10.10.019>
 15. Ye, H., Tao, X., Zhang, W., Chen, Y., Yu, Q., Xie, J. (2022). Food-derived bioactive peptides: production, biological activities, opportunities and challenges. *Journal of Future Foods*, 2(4), 294–306. <https://doi.org/10.1016/j.jfutfo.2022.08.002>
 16. Borrajo, P., Pateiro, M., Gagaoua, M., Franco, D., Zhang, W., Lorenzo, J. M. (2020). Evaluation of the antioxidant and antimicrobial activities of porcine liver protein hydrolysates obtained using alcalase, bromelain, and papain. *Applied Sciences*, 10(7), Article 2290. <https://doi.org/10.3390/app10072290>
 17. Серб, Е. М., Оверченко, М. Б., Игнатова, Н. И., Таджибова, П. Ю., Римарева, Л. В. (2019). К вопросу о контроле качества ферментных препаратов для пищевой промышленности. *Пищевая промышленность*, 4, 87–88. [Serba, E. M., Overchenko, M. B., Ignatova, N. I., Tadjibova, P. Yu., Rimareva, L. V. (2019). On the issue about quality control of enzyme preparations for the food industry. *Food Industry*, 4, 87–88. (In Russian)] <https://doi.org/10.24411/0235-2486-2019-10044>
 18. Римарева, Л. В., Оверченко, М. Б., Игнатова, Н. И., Таджибова, П. Ю., Серб, Е. М. (2020). Некоторые аспекты методологии контроля безопасности, качества и подлинности ферментных препаратов для пищевой промышленности. *Пищевая промышленность*, 4, 48–55. [Rimareva, L. V., Overchenko, M. B., Ignatova, N. I., Tadjibova, P. Yu., Serba, E. M. (2020). Some aspects of the methodology for controlling the safety, quality and authenticity of enzyme preparations for the food industry. *Food Industry*, 4, 48–55. (In Russian)] <https://doi.org/10.24411/0235-2486-2020-10044>
 19. Nadaroglu, H., Polat, M. S. (2022). Microbial extremozymes: Novel sources and industrial applications. Chapter in a book: *Microbial Extremozymes*. Academic Press, 2022. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-822945-3.00019-1>
 20. Зорин, С. Н., Сидорова, Ю. С., Мазо, В. К. (2020). Ферментативные гидролизаты белков молочной сыворотки и куриного яйца: получение, физико-химическая и иммунохимическая характеристики. *Вопросы питания*, 89(1), 64–68. [Zorin, S. N., Sidorova, Yu. S., Mazo, V. K. (2020). Enzymatic hydrolysates of whey protein and chicken egg protein: production, physical-chemical and immunochemical characteristics. *Problems of Nutrition*, 89(1), 64–68. (In Russian)] <https://doi.org/10.24411/0042-8833-2020-10007>
 21. John, A. J., Ghosh, B. C. (2020). Production of whey protein hydrolysates and its incorporation into milk. *Food Production, Processing and Nutrition*, 3, Article 9. <https://doi.org/10.1186/s43014-021-00055-z>
 22. Семенова, Е. С., Симоненко, Е. С., Симоненко, С. В., Зорин, С. Н., Мазо, В. К. (2024). Гидролизаты белков козьего молока. Иммунохимическая и физико-химическая характеристика. *Пищевые системы*, 7(3), 466–472. [Semenova, E. S., Simonenko, E. S., Simonenko, S. V., Zorin, S. N., Mazo, V. K. (2024). Hydrolysates of mare's milk proteins. Immunochemical and physico-chemical characteristics. *Food Systems*, 7(3), 466–472. (In Russian)] <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2024-7-3-466-472>
 23. Серб, Е. М., Римарева, Л. В., Оверченко, М. Б., Игнатова, Н. И., Погоржельская, Н. С. (2022). Роль биокатализа в технологиях переработки зернового сырья. *Пищевая промышленность*, 5, 13–15. [Serba, E. M., Rimareva, L. V., Overchenko, M. V., Ignatova, N. I., Pogorzhe'skaya, N. S. (2022). The role of biocatalysis in grain processing technologies. *Food Industry*, 5, 13–15. (In Russian)] <https://doi.org/10.52653/PPI.2022.5.5.003>
 24. Vitol, I. S., Igoryanova, N. A., Meleshkina, E. P. (2019). Bioconversion of secondary products of processing of grain cereals crops. *Food Systems*, 2(4), 18–24. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2019-2-4-18-24>
 25. Krikunova, L. N., Meleshkina, E. P., Vitol, I. S., Dubinina, E. V., Obodeeva, O. N. (2023). Grain bran hydrolysates in the production of fruit distillates. *Foods and Raw Materials*, 11(1), 35–42. <https://doi.org/10.21603/2308-4057-2023-1-550>
 26. Соколов, Д. В., Болхонов, Б. А., Жамсаранова, С. Д., Лебедева, С. Н., Баженова, Б. А. (2023). Ферментативный гидролиз соевого белка. *Техника и технология пищевых производств*, 53(1), 86–96. [Sokolov, D. V., Bolkhonov, B. A., Zhamsaranova, S. D., Lebedeva, S. N., Bazhenova, B. A. (2023). Enzymatic hydrolysis of soy protein. *Food Processing: Techniques and Technology*, 53(1), 86–96. (In Russian)] <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2023-1-2418>
 27. Витол, И. С., Мелешкина, Е. П. (2021). Ферментативная трансформация пшенично-льняных отрубей. *Пищевая промышленность*, 9, 20–22. [Vitol, I. S., Meleshkina, E. P. (2021). Enzymatic transformation of wheat-flax bran. *Food Industry*, 9, 20–22. (In Russian)] <https://doi.org/10.52653/PPI.2021.9.9.004>
 28. Витол, И. С. (2022). Структурно-модифицированные отруби — инновационный продукт глубокой переработки зерна. *Пищевая промышленность*, 5, 27–29. [Vitol, I. S. (2022). Structurally modified bran is an innovative product of deep grain processing. *Food Industry*, 5, 27–29. (In Russian)] <https://doi.org/10.52653/PPI.2022.5.5.008>
 29. Алексеенко, Е. В. (2012). Ферментативная биоконверсия плодово-ягодного сырья: биохимические аспекты и практическое применение. *Хранение и переработка сельскохозяйственного сырья*, 3, 49–52. [Alekseenko, Ye. V. (2012). Enzymatic bioconversion of fruit and berries: biochemical aspects and practical application. *Storage and Processing of Farm Products*, 3, 49–52. (In Russian)]
 30. Cingöz, A., Yildirim, M. (2023). Effects of hydrolysis degree on the functional properties of hydrolysates from sour cherry kernel protein concentrate. *Foods and Raw Materials*, 11(2), 197–205. <https://doi.org/10.21603/2308-4057-2023-2-566>
 31. Серб, Е. М., Римарева, Л. В., Курбатова, Е. И., Волкова, Г. С., Поляков, В. А., Варламов, В. П. (2017). Исследование процесса ферментативного гидролиза биомассы дрожжей для создания пищевых ингредиентов с заданным фракционным составом белковых веществ. *Вопросы питания*, 86(2), 76–83. [Serba, E. M., Rimareva, L. V., Kurbatova, E. I., Volkova, G. S., Polyakov, V. A., Varlamov, V. P. (2017). The study of the process of enzymatic hydrolysis of yeast biomass to generate food ingredients with the specified fractional composition of protein substances. *Problems of Nutrition*, 86(2), 76–83. (In Russian)]
 32. Pourmohammadi, K., Abedi, E. (2021). Hydrolytic enzymes and their directly and indirectly effects on gluten and dough properties: An extensive review. *Food Science Nutrition*, 9(7), 3988–4006. <https://doi.org/10.1002/fsn3.2344>
 33. Удалова, Л. П., Догаева, Л. А., Юрикова Е. В. (2016). Инновационные виды безалкогольных напитков для функционального питания. *Успехи современного естествознания*, 11(часть 1), 33–37. [Udalova, L. P., Dogaeva, L. A., Yurikova, E. V. (2016). Innovative types of soft drinks for functional food. *Advances in Current Natural Sciences*, 11(part 1), 33–37. (In Russian)]
 34. Tang, T., Wu, N., Tang, S., Xiao, N., Jiang, Y., Tu, Y. et al. (2023). Industrial application of protein hydrolysates in food. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 71(4), 1788–1801. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.2c06957>
 35. Tultabayeva, T., Tokysheva, G., Zhakupova, G., Konysbaeva, D., Mukhtarkhanova, R., Matibayeva, A. et al. (2023). Enhancing nutrition and palatability: The development of cooked sausages with protein hydrolyzate from secondary raw materials for the elderly. *Applied Sciences*, 13(18), Article 10462. <https://doi.org/10.3390/app131810462>
 36. John, J. A., Ghosh, B. C. (2021). Production of whey protein hydrolysates and its incorporation into milk. *Food Production, Processing and Nutrition*, 3(1), Article 9. <https://doi.org/10.1186/s43014-021-00055-z>
 37. Середина А. С., Костылева Е. В., Курбатова Е. И., Цурикова Н. В., Великоречная И. А., Иванов В. В. и др. (2024). Гидролиз белков молочной сыворотки отечественными ферментными препаратами протектического действия. *Пищевая промышленность*, 9, 49–52. [Sereda, A. S., Kostyleva, E. V., Kurbatova, E. I., Tsurikova, N. V., Velikoretskaya, I. A., Ivanov, V. V. et al. (2024). Hydrolysis of whey proteins using domestic proteolytic enzyme preparations. *Food Industry*, 9, 49–52. (In Russian)] <https://doi.org/10.52653/PPI.2024.9.9.009>
 38. Abd El-Salam, M. H., El-Shibiny, S. (2017). Preparation, properties and uses of enzymatic milk protein hydrolysates. *Critical Reviews in Food Science Nutrition*, 57(6), 1119–1132. <https://doi.org/10.1080/10408398.2014.899200>
 39. Богданова, С. А., Сысоева, М. А., Шигабиева, Ю. А. (2023). Физико-химические свойства гидролизатов коллагена и их применение в создании лечебно-косметических композиций. *Ученые записки казанского университета. Серия естественные науки*, 165(3), 345–356. [Bogdanova, S. A., Sysoeva, M. A., Shigabieva, Yu. A. (2023). Physico-chemical properties of collagen hydrolysates and their application in skin care cosmetics. *Uchenye Zapiski Kazanskogo Universiteta Seriya Estestvennyye Nauki*, 165(3), 345–356. (In Russian)] <https://doi.org/10.26907/2542-064X.2023.3.345-356>
 40. Chen, H.-J., Dai, F.-J., Chen, C.-Y., Fan, S.-L., Zheng, J.-H., Huang, Y.-C. et al. (2021). Evaluating the antioxidants, whitening and antiaging properties of rice protein hydrolysates. *Molecules*, 26(12), Article 3605. <https://doi.org/10.3390/molecules26123605>
 41. Hou, Y., Wu, Z., Dai, Z., Wang, G., Wu, G. (2017). Protein hydrolysates in animal nutrition: Industrial production, bioactive peptides, and functional significance. *Journal of Animal Science and Biotechnology*, 8(1), Article 24. <https://doi.org/10.1186/s40104-017-0153-9>
 42. Xu, Y., Sun, M., Zong, X., Yang, H., Zhao, H. (2018). Potential yeast growth and fermentation promoting activity of wheat gluten hydrolysates and soy protein hydrolysates during high-gravity fermentation. *Industrial Crops and Products*, 127, 179–184. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2018.10.077>
 43. Епишкина, Ю. М., Баурина, А. В., Баурин, Д. В., Шакир, И. В., Панфилов, В. И. (2019). Использование гидролизатов белка подсолнечника в качестве источника органического азота в питательных средах. *Успехи в химии и химической технологии*, 33(5(215)), 22–24. [Epishkina, J. M., Baurina, A. V., Baurin, D. V., Shakir, I. V., Panfilov, V. I. (2019). Sunflower protein hydrolysates as a source of organic nitrogen for nutrient medium. *Successes in Chemistry and Chemical Technology*, 33(5(215)), 22–24. (In Russian)]
 44. Серб, Е. М., Римарева, Л. В., Оверченко, М. Б., Игнатова, Н. И., Медриш, М. Э., Павлова, А. А., и др. (2021). Подбор мультиэнзимной композиции и условий подготовки концентрированного зернового сула. *Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология*, 11(3), 384–392. [Serba, E. M., Rimareva, L. V., Overchenko, M. B., Ignatova, N. I., Medrish, M. E., Pavlova, A. A. et al. (2021). Selecting multi-enzyme composition and preparation conditions for strong wort. *Proceedings of Universities. Applied Chemistry and Biotechnology*, 11(3), 384–392. (In Russian)] <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2021-11-3-384-392>
 45. Свердлова, О. П., Шарова, Н. Ю., Принцева, А. А., Гаричева, А. В. (2023). Липолитическая и протеолитическая активности бактериальной культуры *Acinetobacter radioresistens* при культивировании на рапсовом жмыхе. *Пищевая промышленность*, 5, 10–12. [Sverdlova, O. P., Sharova, N. Yu., Printseva, A. A., Garicheva, A. V. (2023). Lipolytic and proteolytic activity of bacterial culture of *acinetobacter radioresistens* during cultivation on rapeseed oilcake. *Food Industry*, 5, 10–12. (In Russian)] <https://doi.org/10.52653/PPI.2023.5.5.002>
 46. Алексаночкин, Д. И., Фоменко, И. А., Алексеева, Е. А., Чернуха, И. М., Машентева, Н. Г. (2024). Получение растительного белка из семян и жмыха промышленной конопля: обзор способов переработки для использования в пищевой промышленности. *Пищевые системы*, 7(2), 188–197. [Aleksanochkin, D. I., Fomenko, I. A., Alekseeva, E. A., Chernukha, I. M., Mashentseva, N. G. (2024). Production of plant protein from seeds and cake of industrial hemp: Overview of processing methods for food industry. *Food Systems*, 7(2), 188–197. (In Russian)] <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2024-7-2-188-197>
 47. Колпакова, В. В., Бызов, В. А. (2024). Функциональные характеристики и молекулярно-структурная модификация растительных белков. Обзор. *Пищевые системы*, 7(3), 324–335. [Kolpakova, V. V., Byzov, V. A. (2024). Functional characteristics and molecular structural modification of plant proteins. Review.

- Food Systems*, 7(3), 324–335. (In Russian)] <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2024-7-3-324-335>
48. Витол, И. С., Мелешкина, Е. П., Крикунова, Л. Н. (2023). Композиции ферментных препаратов для направленной модификации отрубей. *Пищевые системы*, 6(4), 457–462. [Vitol, I. S., Meleshkina, E. P., Krikunova, L. N. (2023). Compositions of enzyme preparations for targeted modification of bran. *Food Systems*, 6(4), 45–462. (In Russian)] <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2023-6-4-457-462>
 49. Серб, Е. М., Шариков, А. Ю., Оверченко, М. Б., Серб, В. В., Римарева, Л. В., Игнатова, Н. И. и др. (2023). Получение концентрированных ферментных препаратов для конверсии белка и полисахаридов сельскохозяйственного сырья в биотехнологических производствах. *Пищевая промышленность*, 4, 46–50. [Serba, E. M., Sharikov, A. Y., Overchenko, M. B., Rimareva, L. V., Ignatova, N. I., Serba, V. V. et al. (2023). Obtaining concentrated enzyme preparations for the conversion of protein and polysaccharides of agricultural raw materials in biotechnological industries. *Food Industry*, 4, 46–50. (In Russian)] <https://doi.org/10.52653/PPI.2023.4.4.008>
 50. Синицын, А. П., Синицына, О. А., Рожкова, А. М., Рубцова, Е. А., Шашков, И. А., Сатрудинов, А. Д. и др. (2023). Возможности промышленного производства ферментов: создание микроорганизмов — продуцентов технических ферментов. *Пищевая промышленность*, 5, 26–30. [Sinityn, A. P., Sinityna, O. A., Rozhkova, A. M., Rubtsova, E. A., Shashkov I. A., Satrudinov, A. D. et al. (2023). Possibilities of industrial production of enzymes: The creation of microorganisms — producers of technical enzymes. *Food Industry*, 5, 26–30. (In Russian)] <https://doi.org/10.52653/PPI.2023.5.5.007>
 51. Синицын, А. П., Синицына, О. А., Зоров, И. Н., Рожкова, А. М. (2020). Возможности экспрессионной системы гриба *Penicillium verrucosum* для получения продуцентов ферментов, обеспечивающих эффективную деградацию возобновляемой растительной биомассы (обзор). *Прикладная биохимия и микробиология*, 56(6), 551–560. [Sinityn, A. P., Sinityna O. A., Zorov I. N., Rozhkova, A. M. (2020). Capabilities of the Fungus *Penicillium verrucosum* Expression System for Producing of Enzymes Providing Effective Destruction of Renewable Plant Biomass (Review). *Applied Biochemistry and Microbiology*, 56(6), 551–560. (In Russian)] <https://doi.org/10.31857/S0555109920060161>
 52. Асфаркулова, А. С., Булушова, Н. В. (2018). Пшеничный глютен и его гидролизаты. Возможные направления практического использования (Обзор). *Биотехнология*, 34(4), 6–17. [Asarkulova, A. S., Bulushova, N. V. (2018). Wheat gluten and its hydrolysates. Possible fields of practical use. *Biotechnologiya*, 34(4), 6–17. (In Russian)] <https://doi.org/10.21519/0234-2758-2018-34-4-6-17>
 53. Bozkurt, F., Bekiroglu, H., Dogan, K., Karasu, S., Sagdic, O. (2021). Technological and bioactive properties of wheat glutenin hydrolysates prepared with various commercial proteases. *LWT—Food Science and Technology*, 149, Article 111787. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.111787>
 54. Костылева, Е. В., Серед, А. С., Великорецкая, И. А., Курбатова, Е. И., Фурсова, Е. А., Пурикова, Н. В. и др. (2023). Применение нового комплексного ферментного препарата на основе штамма *Aspergillus oryzae* при гидролизе пшеничного глютена. *Пищевая промышленность*, 8, 116–120. [Kostyleva, E. V., Sereda, A. S., Velikoretskaya, I. A., Kurbatova, E. I., Fursova, E. A., Tsurikova, N. V. et al. (2023). The use of a new complex enzyme preparation from *aspergillus oryzae* in the hydrolysis of wheat gluten. *Food Industry*, 85, 116–120. (In Russian)] <https://doi.org/10.52653/PPI.2023.8.8.022>
 55. Dunaevsky, Y. E., Tereshchenkova, V. F., Belozersky, M. A., Filippova, I. Y., Orpert, B., Elpidina, E. N. (2021). Effective degradation of gluten and its fragments by gluten-specific peptidases: A review on application for the treatment of patients with gluten sensitivity. *Pharmaceutics*, 13(10), Article 1603. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics13101603>
 56. Vogelsang-O'Dwyer M., Sahin, A.W., Arendt, E.K., Zannini, E. (2022). Enzymatic hydrolysis of pulse proteins as a tool to improve techno-functional properties. *Foods*, 11(9), Article 1307. <https://doi.org/10.3390/foods11091307>
 57. Колпакова, В. В., Чумикина, Л. В., Васильев, А. В., Арабова, Л. И., Топунов, А. Ф. (2011). Особенности действия эндо- и экзопроteinазных ферментных препаратов на белки пшеничной клейковины. *Биотехнология*, 3, 63–73. [Kolpakova, V. V., Chumikina, L. V., Vasiliev, A. V., Arabova, L. I., Topunov, A. F. (2011). A special effect of endo- and exoproteinase enzyme preparations on wheat gluten proteins. *Biotechnologiya*, 3, 63–73. (In Russian)]
 58. Красноштанова, А. А., Шульц, Л. В. (2022). Получение и оценка функциональных свойств белковых изолятов и гидролизатов из растительного сырья. *Химия растительного сырья*, 4, 299–309. [Krasnoshtanova, A. A., Shul'ts, L. V. (2022). Preparation and evaluation of the functional properties of protein isolates and hydrolysates from plant raw materials. *Khimiya Rastitel'nogo Syr'ya*, 4, 299–309. (In Russian)] <https://doi.org/10.14258/jcprm.20220410952>
 59. Zheng, Z., Wang, M., Li, J., Lia, J., Liu, Y. (2020). Comparative assessment of physicochemical and antioxidative properties of mung bean protein hydrolysates. *RSC Advances*, 10(5), 2634–2645. <https://doi.org/10.1039/c9ra06468k>
 60. Костылева, Е. В., Серед, А. С., Великорецкая, И. А., Курбатова, Е. И., Пурикова, Н. В. (2023). Использование протеолитических ферментов для получения белковых гидролизатов пищевого назначения из вторичного сырья. *Вопросы питания*, 92(1), 116–132. [Kostyleva, E. V., Sereda, A. S., Velikoretskaya, I. A., Kurbatova, E. I., Tsurikova, N. V. (2023). Proteases for obtaining of food protein hydrolysates from proteinaceous by-products. *Problems of Nutrition*, 92(1), 116–132. (In Russian)] <https://doi.org/10.35029/0042-8835-2023-92-1-116-132>
 61. Klost, M., Drusch, S. (2019). Functionalisation of pea protein by tryptic hydrolysis — characterisation of interfacial and functional properties. *Food Hydrocolloids*, 86(1), 134–140. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2018.03.013>
 62. Brückner-Gühmann, M., Heiden-Hecht, T., Sözer, N., Drusch, S. (2018). Foaming characteristics of oat protein and modification by partial hydrolysis. *European Food Research and Technology*, 244(12), 2095–2106. <https://doi.org/10.1007/s00217-018-3118-0>
 63. García Artega, V., Apéstegui Guardia, M., Muranyi, I., Eisner, P., Schweiggert-Weisz, U. (2020). Effect of enzymatic hydrolysis on molecular weight distribution, techno-functional properties and sensory perception of pea protein isolates. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 65, Article 102449. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2020.102449>
 64. Esfandi, R., Willmore, W. G., Tsopmo, A. (2019). Peptidomic analysis of hydrolyzed oat bran proteins and their in vitro antioxidant and metal chelating properties. *Food Chemistry*, 279, 49–57. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.11.110>
 65. Chen, L., Chen, J., Yu, L., Wu, K., Zhao, M. (2018). Emulsification performance and interfacial properties of enzymically hydrolyzed peanut protein isolate pretreated by extrusion cooking. *Food Hydrocolloids*, 77, 607–616. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2017.11.002>
 66. Schlegel, K., Leidigkeit, A., Eisner, P., Schweiggert-Weisz, U. (2019). Technofunctional and sensory properties of fermented lupin protein isolates. *Foods*, 8(12), Article 678. <https://doi.org/10.3390/foods8120678>
 67. Eckert, E., Han, J., Swallow, K., Tian, Z., Jarpa-Parra, M., Chen, L. (2019). Effects of enzymatic hydrolysis and ultrafiltration on physicochemical and functional properties of faba bean protein. *Cereal Chemistry*, 96(4), 725–741. <https://doi.org/10.1002/cche.10169>
 68. Felix, M., Cermeño, M., FitzGerald, R. J. (2020). Influence of hydrolysis on the bioactive properties and stability of chickpea-protein-based o/w emulsions. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 68(37), 10118–10127. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.0c02427>
 69. Балабан, Н. П., Шарипова, М. Р. (2011). Практическое применение бациллярных протеаз. *Ученые записки Казанского университета. Серия Естественные науки*, 153(2), 29–40. [Balaban, N. P., Sharipova, M. R. (2011). Practical use of bacillary proteases. *Uchenye Zapiski Kazanskogo Universiteta. Seriya Estestvennye Nauki*, 153(2), 29–40. (In Russian)]
 70. FitzGerald, R. J., O'Cuinn, G. O. (2006). Enzymatic debittering of food protein hydrolysates. *Biotechnology Advances*, 24(2), 234–237. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2005.11.002>
 71. Meinschmidt, P., Sussmann, D., Schweiggert-Weisz, U., Eisner, P. (2015). Enzymatic treatment of soy protein isolates: Effects on the potential allergenicity, techno-functionality, and sensory properties. *Food Science Nutrition*, 4(1), 11–23. <https://doi.org/10.1002/fsn3.253>
 72. Xu, Y., Zhao, J., Hu, R., Wang, W., Griffin, J., Li, Y. et al. (2021). Effect of genotype on the physicochemical, nutritional, and antioxidant properties of hemp seed. *Journal of Agriculture and Food Research*, 3, Article 100119. <https://doi.org/10.1016/j.jafr.2021.100119>
 73. Girgih, A. T., He, R., Malomo, S., Offengenden, M., Wu, J., Aluko, R. E. (2014). Structural and functional characterization of hemp seed (*Cannabis sativa* L.) protein-derived antioxidant and antihypertensive peptides. *Journal of Functional Foods*, 6, 384–394. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2013.11.005>
 74. Cai, L., Wu, S., Jia, C., Cui, C. (2023). Hydrolysates of hemp (*Cannabis sativa* L.) seed meal: Characterization and their inhibitory effect on α -glucosidase activity and glucose transport in Caco-2 cells. *Industrial Crops and Products*, 205, Article 117559. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2023.117559>
 75. Aluko, R. E. (2021). Food-derived acetylcholinesterase inhibitors as potential agents against Alzheimer's Disease. *EFood*, 2(2), 49–58. <https://doi.org/10.2991/efood.k.210318.001>
 76. Римарева, Л. В., Оверченко, М. Б., Серб, Е. М., Игнатова, Н. И., Шелехова, Н. В. (2021). Конверсия полимеров зерна пшеницы и кукурузы под влиянием фитолитических и протеолитических ферментов. *Сельскохозяйственная биология*, 56(2), 374–383. [Rimareva, L. V., Overchenko, M. B., Serba, E. M., Ignatova, N. I., Shelekhova, N. V. (2021). Influence of phytolytic and proteolytic enzymes on conversion of wheat and corn grain polymers. *Agricultural Biology*, 56(2), 374–383. (In Russian)] <https://doi.org/10.15389/agrobiology.2021.2.374rus>
 77. Погорелова, Н. А., Гаврилова, Н. Б., Рогачев, Е. А., Шетинина, Е. М. (2020). Определение эффективности способов конверсии пшеничных отрубей для использования их в технологии продуктов питания. *Хранение и переработка сельхозсырья*, 1, 48–57. [Pogorelova, N. A., Gavrilova, N. B., Rogachev, E. A., Schetinina, E. M. (2020). Determining the effectiveness of wheat bran conversion methods for use in food technology. *Storage and Processing of Farm Products*, 1, 48–57. (In Russian)] <https://doi.org/10.36107/spfp.2020.228>
 78. Kaprelants, L., Zhurlova, O. (2017). Technology of wheat and rye bran biotransformation into functional ingredients. *International Food Research Journal*, 24(5), 1975–1979.
 79. Мелешкина, Е. П., Ванина, Л. В., Витол, И. С. (2024). Актуальные направления развития науки о зерне. Обзор. *Пищевые системы*, 7(3), 444–453. [Meleshkina, E. P., Vanina, L. V., Vitol, I. S. (2024). Current developments in grain science. Review. *Food Systems*, 7(3), 444–453. (In Russian)] <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2024-7-3-444-453>
 80. Витол, И. С., Мелешкина, Е. П., Панкратов, Г. Н. (2022). Отруби из композитной зерносмеси как объект глубокой переработки. Часть 1. Белково-протеиназный комплекс. *Пищевые системы*, 5(4), 282–288. [Vitol, I. S., Meleshkina, E. P., Pankratov, G. N. (2022). Bran from composite grain mixture is an object of deep processing. Part 1. Protein-proteinase complex. *Food Systems*, 5(4), 282–288. (In Russian)] <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2022-5-4-282-288>
 81. Витол, И. С., Мелешкина, Е. П., Панкратов, Г. Н. (2023). Отруби из композитной зерносмеси как объект глубокой переработки. Часть 2. Углеводно-амилазный и липидный комплексы. *Пищевые системы*, 6(1), 22–28. [Vitol, I. S., Meleshkina, E. P., Pankratov, G. N. (2023). Bran from composite grain mixture as an object of deep processing. Part 2. Carbohydrate-amylase and lipid complexes. *Food Systems*, 6(1), 22–28. (In Russian)] <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2023-6-1-22-28>
 82. Витол, И. С. (2024). Характеристика продуктов ферментативной модификации бобовых культур. *Пищевая промышленность*, 10, 73–76. [Vitol, I. S. (2024). Characteristics of products of enzymatic modification of legume seeds. *Food Industry*, 10, 73–76. (In Russian)] <https://doi.org/10.52653/PPI.2024.10.10.014>
 83. Mudryj, A. N., Yu, N., Aukema, H. M. (2014). Nutritional and health benefits of pulses. *Applied Physiology, Nutrition, and Metabolism*, 39(11), 1197–1204. <https://doi.org/10.1139/apnm-2013-0557>
 84. Возиян, В. И., Таран, М. Г., Якобуца, М. Д., Авадений, Л. П. (2013). Питательная ценность сортов сои, гороха, фасоли и содержание в них антипитатель-

ных веществ. *Зернобобовые и крупяные культуры*, 1(5), 26–29. [Vozijan, V. I., Taran, M. G., Jakobutsa, M. D., Avadeny, L. P. (2013). Nutritive value of varieties of soya, peas, dry beans and content of anti-nutritive substances in them. *Legumes and Groat Crops*, 1(5), 26–29. (In Russian)]

85. Agarwal, S., Fulgoni, V. L. (2023). Effect of adding pulses to replace protein foods and refined grains in healthy dietary patterns. *Nutrients*, 15(20), Article 204355. <https://doi.org/10.3390/nu15204355>

86. Samtiya, M., Aluko, R. E., Dhewa, T. (2020). Plant food anti-nutritional factors and their reduction strategies: An overview. *Food Production, Processing and Nutrition*, 2(1), Article 6. <https://doi.org/10.1186/s43014-020-0020-5>

87. Hrčková, M., Rusňáková, M., Zemanovič, J. (2000). Enzymatic hydrolysis of de-fatted soy flour by three different proteases and their effect on the functional properties of resulting protein. *Czech Journal of Food Sciences*, 20(1), 7–14. <https://doi.org/10.17221/3503-CJFS>

88. Черкашина, Е. С., Лодыгин, Д. Н., Лодыгин, А. Д. (2014). Ферментативные гидролизаты вторичного растительного сырья: анализ аминокислотного состава и перспективы использования. *Вестник Северо-Кавказского федерального университета*, 3(42), 112–116. [Cherkashina, E. S., Lodygin D. N., Lodygin A. D. Enzymatic hydrolysates of secondary plant materials: Analysis of amino acid composition and prospects of their application. *Newsletter of North-Caucasus Federal University*, 3(42), 112–116. (In Russian)]

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ	AUTHOR INFORMATION
Принадлежность к организации	Affiliation
Витол Ирина Сергеевна — кандидат биологических наук, доцент, старший научный сотрудник, Всероссийский научно-исследовательский институт зерна и продуктов его переработки 127434, Москва, Дмитровское шоссе, 11 Тел.: +7-926-709-02-07 E-mail: i.vitol@fncps.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0001-5362-8909 * автор для контактов	Irina S. Vitol — Candidate of Biological Sciences, Docent, Senior Researcher, All-Russian Scientific and Research Institute for Grain and Products of its Processing 11, Dmitrovskoye Shosse, Moscow, 127434, Russia Tel.: +7-926-709-02-07 E-mail: i.vitol@fncps.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0001-5362-8909 * corresponding author
Мелешкина Елена Павловна — доктор технических наук, директор, Всероссийский научно-исследовательский институт зерна и продуктов его переработки 127434, Москва, Дмитровское шоссе, 11 Тел.: +7-499-976-23-23 E-mail: e.meleshkina@fncps.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0003-1339-7150	Elena P. Meleshkina — Doctor of Technical Sciences, Director, All-Russian Scientific and Research Institute for Grain and Products of its Processing 11, Dmitrovskoye Shosse, Moscow, 127434, Russia Tel.: +7-499-976-23-23 E-mail: e.meleshkina@fncps.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0003-1339-7150
Критерии авторства	Contribution
Авторы в равных долях имеют отношение к написанию рукописи и одинаково несут ответственность за плагиат.	The author has the sole responsibility for writing the manuscript and is responsible for plagiarism.
Конфликт интересов	Conflict of interest
Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.	The authors declare no conflict of interest.