

ISSN 2414-438X (Print)  
ISSN 2414-441X (Online)



# THEORY AND PRACTICE OF MEAT PROCESSING

ТЕОРИЯ И ПРАКТИКА  
ПЕРЕРАБОТКИ МЯСА

Vol. 3 (I), 2018



**Федеральное агентство научных организаций**  
**Federal Agency of Scientific Organizations**  
**(FANO of Russia)**

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Федеральный научный центр пищевых систем им. В.М. Горбатова» РАН  
 Federal State Budgetary Scientific Institution «V.M. Gorbatov Federal Research Center for Food Systems of Russian Academy of Sciences»  
 (Gorbatov Research Center for Food Systems)

**Теория и практика переработки мяса**  
**Theory and Practice of Meat Processing**

**Учредитель и издатель:** Founder and publisher:  
 Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Федеральный научный центр пищевых систем им. В.М. Горбатова» РАН

Federal State Budgetary Scientific Institution « V.M. Gorbatov Federal Research Center for Food Systems of Russian Academy of Sciences»

**Главный редактор:**

**Лисицын Андрей Борисович**, доктор технических наук, профессор, академик РАН, научный руководитель ФГБНУ «Федеральный научный центр пищевых систем им. В.М. Горбатова» РАН, г. Москва, Россия

**Заместитель главного редактора:**

**Чернуха Ирина Михайловна**, доктор технических наук, профессор, член-корреспондент РАН, руководитель научного направления ФГБНУ «Федеральный научный центр пищевых систем им. В.М. Горбатова» РАН, г. Москва, Россия

**Научный редактор:**

**Горбунова Наталия Анатольевна**, кандидат технических наук, ученый секретарь ФГБНУ «Федеральный научный центр пищевых систем им. В.М. Горбатова» РАН, г. Москва, Россия

**Выпускающий редактор:**

**Захаров Александр Николаевич**, кандидат технических наук, старший научный сотрудник, заведующий редакционно-издательским отделом ФГБНУ «Федеральный научный центр пищевых систем им. В.М. Горбатова» РАН, г. Москва, Россия.

**Адрес редакции и типографии:**

109316, Россия, Москва, Талалихина, 26,  
 Федеральный научный центр пищевых систем им. В.М. Горбатова РАН.

[www.meatjournal.ru](http://www.meatjournal.ru)

Журнал зарегистрирован в Роскомнадзоре

Регистрационные данные:

ПИ № ФС77-71611 от 13.11.2017 года

ЭЛ № ФС77-71609 от 13.11.2017 года

Периодичность — 4 номера в год.

Издается с 2015 года.

Подписной индекс в каталоге «Пресса России» 38871

Подписано в печать 29.03.18.

Тираж 1000 экз. Заказ № 110.

Типография ФНЦПС.

© ФНЦПС, 2018

**ISSN 2414-438X (Print)**  
**ISSN 2414-441X (Online)**

**Редакционная коллегия:**

**Баженова Баяна Анатольевна**, доктор технических наук, доцент, профессор кафедры «Технология мясных и консервированных продуктов» ФГБОУ ВПО Восточно-Сибирский университет технологии и управления, г. Улан-Удэ, Россия

**Белозеров Георгий Автономович**, доктор технических наук, член-корреспондент РАН, директор Всероссийского научно-исследовательского института холодаильной промышленности — филиал ФГБНУ «Федеральный научный центр пищевых систем им. В.М. Горбатова» РАН, г. Москва, Россия

**Горлов Иван Федорович**, доктор сельскохозяйственных наук, профессор, академик РАН, научный руководитель ФГБНУ «Поволжский научно-исследовательский институт производства и переработки мясомолочной продукции», г. Волгоград, Россия

**Дедерер Ирина**, кандидат технических наук, научный сотрудник Института Макса Рубнера, Кульбах, ФРГ.

**Джорджевич Весна**, доктор, директор Института гигиены и технологии мяса, г. Белград, Сербия

**Дунченко Нина Ивановна**, доктор технических наук, профессор, заведующая кафедрой «Управление качеством и товароведения продукции» ФГБОУВО «Российский государственный аграрный университет имени К.А. Тимирязева», Москва, Россия

**Жайлаубаев Жанибек Даалеевич**, доктор технических наук, член корреспондент АСХН РК, директор СФ ТОО «Казахский научно-исследовательский институт перерабатывающей и пищевой промышленности», г. Семей, Республика Казахстан

**Замарацкая Галя**, доктор наук, Шведский сельскохозяйственный университет, г. Уппсала, Швеция

**Кочеткова Алла Алексеевна**, доктор технических наук, профессор, руководитель лаборатории пищевых биотехнологий и специализированных продуктов ФГБУН «Федеральный исследовательский центр питания, биотехнологии и безопасности пищи», г. Москва, Россия

**Мелещеня Алексей Викторович**, кандидат экономических наук, директор НПРДУП «Институт мясо-молочной промышленности», г. Минск, Республика Беларусь

**Мирошников Сергей Александрович**, доктор биологических наук, профессор, директор ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт мясного скотоводства», г. Оренбург, Россия

**Римарева Любовь Вячеславовна**, доктор технических наук, профессор, чл.-корр. РАН, заслуженный деятель науки РФ, заместитель директора Всероссийского научно-исследовательского института пищевой биотехнологии — филиал ФГБУН «Федеральный исследовательский центр питания, биотехнологии и безопасности пищи», г. Москва, Россия

**Рудь Андрей Иванович**, доктор сельскохозяйственных наук, главный научный сотрудник отдела генетики, биотехнологии и технологий в свиноводстве ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт животноводства имени академика Л.К. Эрнста», г. Подольск, Россия

**Риочи Саката**, профессор, университет Аджабу, г. Сагамихара, Япония

**Семенова Анастасия Артуровна**, доктор технических наук, профессор, заместитель директора ФГБНУ «Федеральный научный центр пищевых систем им. В.М. Горбатова» РАН, г. Москва, Россия

**Тимошенко Николай Васильевич**, доктор технических наук, профессор, заведующий кафедрой технологии хранения и переработки животноводческой продукции Кубанского ГАУ, г. Краснодар, Россия

**Ханферьян Роман Авакович**, доктор медицинских наук, профессор, заведующий лабораторией иммунологии, ФГБУН «Федеральный исследовательский центр питания, биотехнологии и безопасности пищи», Москва, Россия

Федеральное агентство  
научных организаций

Federal Agency of Scientific Organizations  
(FANO of Russia)

Федеральное государственное бюджетное  
научное учреждение «Федеральный научный центр  
пищевых систем им. В.М. Горбатова» РАН  
Federal State Budgetary Scientific Institution  
«V.M. Gorbatov Federal Research Center for Food  
Systems of Russian Academy of Sciences»  
(Gorbatov Research Center for Food Systems)

**Теория и практика переработки мяса**  
**Theory and Practice of Meat Processing**

**Учредитель и издатель:**

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

Federal State Budgetary Scientific Institution  
«V.M. Gorbatov Federal Research Center for Food  
Systems of Russian Academy of Sciences»

**Editor-in-Chief:**

**Andrey B. Lisitsyn**, doctor of technical sciences, professor,  
Academician of RAS, Scientific supervisor  
of FGBNU «V.M. Gorbatov Federal Research Center  
for Food Systems of Russian Academy of Sciences»,  
Moscow, Russia

**Deputy Editor-in-Chief:**

**Irina M. Chernukha**, doctor of technical sciences,  
professor, corresponding members of RAS,  
head of the scientific direction FGBNU «V.M. Gorbatov  
Federal Research Center for Food Systems of Russian  
Academy of Sciences», Moscow, Russia

**Science editor:**

**Natalia A. Gorbunova**, candidate  
of technical sciences, Academic Secretary of FGBNU  
«V.M. Gorbatov Federal Research Center for Food  
Systems of Russian Academy of Sciences», Moscow, Russia

**Production editor:**

**Aleksandr N. Zakharov**, candidate of technical sciences,  
senior ressearch worker, Head of the Editorial and  
Publishing Department of FGBNU «V.M. Gorbatov Federal  
Research Center for Food Systems of Russian Academy  
of Sciences», Moscow, Russia

**Printing Office:**

109316, Talalikhina str. 26, Moscow, Russia,  
Gorbatov Research Center for Food Systems.  
[www.meatjournal.ru](http://www.meatjournal.ru)

Журнал зарегистрирован в Роскомнадзоре

Регистрационные данные:

ПИ № ФС77-71611 от 13.11.2017 года

ЭЛ № ФС77-71609 от 13.11.2017 года

Frequency — 4 issues a year.

Published in 2015.

Subscription index in the catalogue «Press of Russia» 38871

Signed print 29.03.18.

Circulation — 1000 copies. Order № 110.

Printing house — FNCFC.

**Editorial board:**

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

**Georgy A. Belozerov**, doctor of technical sciences, corresponding  
members of RAS, Director of All-Russian Scientific Research  
Institute of Refrigeration Industry — Branch of V.M. Gorbatov Federal  
Research Center for Food Systems of RAS, Moscow, Russia

**Ivan F. Gorlov**, doctor of agricultural sciences, professor,  
academician of RAS, Scientific supervisor of FGBNU «Povelzhskiy  
Research Institute of Production and Processing of Meat and Dairy  
Products», Volgograd, Russia

**Irina Dederer**, candidate of technical sciences, research worker,  
Max Rubner-Institut, Kulmbach, Germany.

**Vesna Djordjevic**, doctor, director, the Institute of Meat Hygiene  
and Technology, Belgrad, Serbia

**Nina I. Dunchenko**, doctor of technical sciences, professor, the  
head of the chair «Product quality management and merchandise  
knowledge», FGBOUBO Russian State Agrarian University —  
Moscow Timiryazev Agricultural Academy, Moscow, Russia

**Zhinibek D. Zhailubaev**, doctor of technical sciences,  
corresponding member of the Academy of Agricultural Sciences  
of the Republic of Kazakhstan, Director of the Semey Branch of  
the Kazakh Scientific Research Institute for Processing and Food  
Industry, Semey, The Republic of Kazakhstan

**Galia Zamaratskaya**, candidate of technical sciences, docent,  
research worker, the Swedish University of Agricultural Sciences,  
Uppsala, Sweden

**Alla A. Kochetkova**, doctor of technical sciences, professor, the  
head of the «Laboratory of food biotechnologies and specialized  
products», FGBUN «Federal Research Centre of nutrition,  
biotechnology and food safety», Moscow, Russia

**Aliaksei V. Meliashchenia**, candidate of economical sciences,  
Director of NPPDUP «The Institute of Meat and Dairy Industry»  
of the Republican Unitary Enterprise «The Scientific-practical  
Center of the Natinonal Academy of Sciences of Belarus for food»,  
Minsk, the Republic of Belarus

**Sergey A. Miroshnikov**, doctor of biological sciences, professor,  
Director of FGBNU «The All-Russian Research Institute of Beef  
Cattle», Orenburg, Russia

**Liubov V. Rimareva**, doctor of technical sciences, professor,  
corresponding member of RAS, Honored worker of science of the  
RF, deputy director of The All-Russian Scientific Research Institute  
of Food Biotechnology — branch FGBUN «Federal Research  
Centre of nutrition, biotechnology and food safety», Moscow,  
Russia

**Andrey I. Rud**, doctor of agricultural sciences, chief research  
worker of the Department of Genetics, biotechnology and  
technology in pig of FGBNU «The All-Russian Research Institute  
for Animal Husbandry named after academician L.K. Ernst»  
Podolsk, Russia

**Sakata Ryoichi**, PhD, doctor, professor of agricultural sciences,  
Azabu University, Sagamihara, Japan

**Anastasiya A. Semenova**, doctor of technical sciences, professor,  
Deputy Director of FGBNU «V.M. Gorbatov Federal Research  
Center for Food Systems of Russian Academy of Sciences»,  
Moscow, Russia

**Nikolai V. Timoshenko**, doctor of technical sciences, professor,  
the head of the chair «Technology of storage and processing of  
animal products» of the Kuban State Agrarian University (Kub  
SAU), Krasnodar, Russia

**Roman A. Khanferyan**, doctor of medical sciences, professor, the  
head of the laboratory of Immunology, FGBUN «Federal Research  
Centre of nutrition, biotechnology and food safety», Moscow,  
Russia

# СОДЕРЖАНИЕ

Кудряшов Л.С., Куприянов В.А., Щербаков И.Т., Крылова В.Б., Густова Т.В.	
<b>ВЛИЯНИЕ КОЛБАСЫ ВАРЕНОЙ ОБОГАЩЕННОЙ ЛАКТУЛОЗОЙ И ПИЩЕВЫМИ ВОЛОКНАМИ НА МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНОЕ СОСТОЯНИЕ СЛИЗИСТОЙ ОБОЛОЧКИ ТОЛСТОГО КИШЕЧНИКА И МИКРОБИОЦЕНОЗ У КРЫС .....</b>	<b>4</b>
Иванкин А.Н., Вострикова Н.Л., Куликовский А.В., Олиференко Г.Л.	
<b>МИКРОКОМПОНЕНТЫ ПИЩЕВЫХ СИСТЕМ НА ОСНОВЕ ЖИВОТНОГО И ДРУГИХ ВИДОВ СЫРЬЯ. ОБЗОР .....</b>	<b>16</b>
Лисицын А.Б., Чернуха И.М., Лунина О.И.	
<b>СОВРЕМЕННЫЕ ТЕНДЕНЦИИ РАЗВИТИЯ ИНДУСТРИИ ФУНКЦИОНАЛЬНЫХ ПИЩЕВЫХ ПРОДУКТОВ В РОССИИ И ЗА РУБЕЖОМ .....</b>	<b>29</b>
Горбунова Н.А.	
<b>ВОЗМОЖНОСТИ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ СТАБИЛЬНЫХ ИЗОТОПОВ ДЛЯ ИДЕНТИФИКАЦИИ ГЕОГРАФИЧЕСКОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ МЯСА И МЯСНЫХ ПРОДУКТОВ. ОБЗОР .....</b>	<b>46</b>
Фофанова Т.С.	
<b>ТЕХНОЛОГИЯ СУ-ВИД — НЕКОТОРЫЕ АСПЕКТЫ КАЧЕСТВА И МИКРОБИОЛОГИЧЕСКОЙ БЕЗОПАСНОСТИ .....</b>	<b>59</b>

# CONTENTS

Leonid S. Kudryashov, Vadim A. Kupriyanov, Ivan T. Scherbakov, Valentina B. Krylova, Tatyana V. Gustova	
<b>THE IMPACT OF THE COOKED SAUSAGE ENRICHED WITH LACTULOSE AND FOOD FIBERS ON THE MORPHOFUNCTIONAL CONDITION OF THE MUCOUS MEMBRANE OF THE LARGE INTESTINE AND MICROBIOTA (MICROBIOCENOSIS) IN RATS .....</b>	<b>4</b>
Andrew N. Ivankin, Natal'ya L. Vostrikova, Andrey V. Kulikovskii, Galina L. Oliferenko	
<b>MICROCOMPONENTS OF FOOD SYSTEMS BASED ON ANIMAL AND OTHER RAW MATERIALS. REVIEW .....</b>	<b>16</b>
Andrey B. Lisitsyn, Irina M. Chernukha, Olga I. Lunina	
<b>MODERN TRENDS IN THE DEVELOPMENT OF THE FUNCTIONAL FOOD INDUSTRY IN RUSSIA AND ABROAD .....</b>	<b>29</b>
Nataliya A. Gorbunova	
<b>POSSIBILITIES OF USING STABLE ISOTOPES FOR IDENTIFICATION OF GEOGRAPHICAL ORIGIN OF MEAT AND MEAT PRODUCTS. A REVIEW .....</b>	<b>46</b>
Tatyana S. Fofanova	
<b>SOUS VIDE TECHNOLOGY — SEVERAL ASPECTS OF QUALITY AND MICROBIOLOGICAL SAFETY .....</b>	<b>59</b>

# ВЛИЯНИЕ КОЛБАСЫ ВАРЕНОЙ ОБОГАЩЕННОЙ ЛАКТУЛОЗОЙ И ПИЩЕВЫМИ ВОЛОКНАМИ НА МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНОЕ СОСТОЯНИЕ СЛИЗИСТОЙ ОБОЛОЧКИ ТОЛСТОГО КИШЕЧНИКА И МИКРОБИОЦЕНОЗ У КРЫС

Кудряшов Л.С.<sup>1,\*</sup> Куприянов В.А.<sup>2</sup>, Щербаков И.Т.<sup>3</sup>, Крылова В.Б.<sup>1</sup>, Густова Т.В.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Федеральный научный центр пищевых систем им. В.М. Горбатова РАН, Москва, Россия

<sup>2</sup> Компания «Керри», Москва, Россия

<sup>3</sup> Московский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Г.Н.Габричевского, Москва, Россия

**Ключевые слова:** пищевые волокна, лактулоза, вареная колбаса, слизистая оболочка кишечника, профилактическая направленность

## Аннотация

В статье представлены исследования по разработке продуктов лечебного и лечебно-профилактического питания для людей с нарушением нормальной кишечной микрофлоры. Установлено, что введение в рецептуру вареной колбасы пищевых свекловичных волокон на основе сахарной свеклы, гидратированных в соотношении 1:5, в количестве 10 % к массе фарша и лактулозного сиропа, синтезированного из молочного сахара, в количестве 640 мг/кг фарша сохраняет традиционные органолептические свойства продукта. Проведены сравнительные морфометрические, гистохимические и бактериоскопические исследования влияния вареной колбасы без добавок и колбасы обогащенной пищевыми волокнами и лактулозой на морфофункциональное состояние слизистой оболочки толстого кишечника (СОТК) крыс. Показано значимое увеличение высоты эпителиоцитов поверхности эпителия, возрастание частоты митозов в эпителии крипт кишечных желез (с  $0,6 \pm 0,08\%$  до  $1,1 \pm 0,04\%$ ), имеется тенденция к повышению содержания бакаловидных экзокриноцитов (с  $21,3 \pm 5,5\%$  до  $32,4 \pm 18,7\%$ ), при этом мукоциты интенсивно продуцировали альциантозитивную слизь, что свидетельствует о стимулирующем влиянии колбасы, обогащенной лактулозой, на функциональное состояние поверхности эпителия и кишечных желез слизистой оболочки толстой кишки. На основании результатов исследований влияния пищевых свекловичных волокон и лактулозы, содержащихся в рационе крыс в толстом и тонком кишечнике зафиксировано на порядок большее количество бифидо- и лактобактерий в сравнении с контрольной группой животных. Одновременно установлено, что в толстом кишечнике у животных получавших экспериментальную колбасу на порядок выше количество лактобактерий.

Original scientific paper

# THE IMPACT OF THE COOKED SAUSAGE ENRICHED WITH LACTULOSE AND FOOD FIBERS ON THE MORPHOFUNCTIONAL CONDITION OF THE MUCOUS MEMBRANE OF THE LARGE INTESTINE AND MICROBIOTA (MICROBIOCENOSIS) IN RATS

Leonid S. Kudryashov<sup>1,\*</sup> Vadim A. Kupriyanov<sup>2</sup> Ivan T. Scherbakov<sup>3</sup>, Valentina B. Krylova<sup>1</sup>, Tatiana V. Gustova<sup>1</sup>

<sup>1</sup> V.M. Gorbatov Federal Research Center for Food Systems of Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia

<sup>2</sup> The company «Kerry», Moscow, Russia

<sup>3</sup> Moscow Research Institute of Epidemiology and Microbiology G. N. Gabrichevskiy, Moscow, Russia

**Key words:** food fibers, lactulose, cooked sausage, mucous membrane, preventive focus

## Abstract

The researches on the development of medical and medical-preventive food products for people with violation of normal intestinal microflora are presented in the article. It was found that, the introduction into the formulation of cooked sausage food beet fibers based on sugar beet, hydrated in a ratio 1:5, in amount 10 % to weight of mince and lactulose, synthesized from lactose, in amount 640 mg/kg mince retains the traditional organoleptic properties of the product. There were carried out comparative morphometric, histochemical and bacterioscopic studies of boiled sausage effect without additives and sausage enriched with food fibers and lactulose on the morphofunctional condition of the mucous membrane of the colon (MMC) of rats. Was shown a significant height

**ДЛЯ ЦИТИРОВАНИЯ:** Кудряшов Л.С., Куприянов В.А., Щербаков И.Т., Крылова В.Б., Густова Т.В. Влияние колбасы вареной обогащенной лактулозой и пищевыми волокнами на морфофункциональное состояние слизистой оболочки толстого кишечника и микробиоценоз у крыс. Теория и практика переработки мяса. 2018;3(1):4-15. DOI 10.21323/2414-438X-2018-3-1-4-15

**FOR CITATION:**

Kudryashov L.S., Kupriyanov V.A., Scherbakov I.T., Krylova V.B., Gustova T.V. The impact of the cooked sausage enriched with lactulose and food fibers on the morphofunctional condition of the mucous membrane of the large intestine and microbiota (microbiocenosis) in rats. Theory and practice of meat processing. 2018;3(1):4-15. (In Russ.) DOI 10.21323/2414-438X-2018-3-1-4-15

*increase of epithelial surface of epithelium, an increase of frequency mitoses in the epithelium crypts of intestinal glands (from  $0.6 \pm 0.08\%$  to  $1.1 \pm 0.04\%$ ), there is a tendency of increasing content of goblet ekzokrinnye (from  $21.3 \pm 5.5\%$  to  $32.4 \pm 18.7\%$ ), while the mucosal were intensively produced allopathically mucus, which indicates the stimulation of sausage, enriched with lactulose on the functional status of the surface epithelium and intestinal glands of the mucous membrane of the colon. Based on the studies results of the effect of food beet fibers and lactulose, contained in the ration of rats in large and small intestine were fixed on order greater amount of bifido- and lactobacteria in comparison with the animals control group. Same time, it was found that in the large intestine the number of lactobacilli were much higher in animals receiving experimental sausage.*

## Введение

Исследования в нашей стране и за рубежом показали, что продукты питания являются источником природных компонентов пищи, обладающие не только питательной ценностью, но и регулируют многочисленные функции и реакции организма.

Известно, что многие заболевания у людей связаны с нарушением нормальной кишечной микрофлоры, что диктует необходимость проведения исследований по разработке продуктов лечебного и лечебно-профилактического питания, восстанавливающих её.

Наиболее перспективным направлением решения данной задачи является создание функциональных продуктов, в состав которых входят пищевые волокна (ПВ) и другие элементы, относящиеся к категории функционального питания [1,2]. Недостаток пищевых волокон в продуктах питания приводит к уменьшению сопротивляемости человеческого организма воздействию окружающей среды, ухудшению метаболизма углеводов в желудочно-кишечном тракте, развитию онкологических заболеваний, снижению работы сердечно-сосудистой и пищеварительной системы [3].

Для стабилизации нормальной микрофлоры кишечника необходимы вещества, обладающие бифидогенным действием, обеспечивающим микрофлору источником углерода и энергии [4]. В качестве бифидогенного материала в нашей стране наибольшее распространение получила лактулоза [5]. Лактулоза была первым, искусственно полученным соединением, внедренным в широкую практику в качестве бифидогенного фактора.

В последние годы в публикациях появилась информация о определенных взаимоотношениях в кишечнике между растительными волокнами и микрофлорой [6]. Проведенными исследованиями было показано, что пищевые волокна и лактулоза не изменяют органолептические продукты, но вместе с тем придают им позитивные свойства, характерные для данных ингредиентов [7].

Однако в имеющихся публикациях отсутствует информация о влиянии мясных продуктов содержащих пищевые волокна и лактулозу на морфофункциональное состояние слизистой оболочки кишечника.

Учитывая эти обстоятельства, были проведены исследования по использованию свекловичных пищевых волокон и лактулозы в рецептуре вареных колбасных изделий для восстановления полезной микрофлоры толстой кишки подопытных животных.

Целью настоящей работы является выполнение сравнительных морфометрических, гистохимических и бактериоскопических исследований влияния вареной колбасы без добавок и колбасы обогащенной пищевыми волокнами и лактулозой на морфофункциональное состояние слизистой оболочки толстого кишечника крыс.

## Материалы и методы

Исследования проводили с отечественным концентратом осветленных пищевых свекловичных волокон на основе сахарной свеклы и лактулозный сиропом «Лактусан» синтезированным из молочного сахара специально для пищевой промышленности ЗАО «Фелицата» (г. Москва).

В качестве объекта исследования была выбрана колбаса вареная «Диабетическая». Первоначально экспериментально было установлено количество вводимых гидратированных 1:5 свекловичных волокон в количестве 10 % к массе фарша и лактулозы в количестве 640 мг/кг фарша в рецептуру колбасных изделий с целью сохранения традиционных органолептических свойств продукта [8].

Морфологические и бактериоскопические исследования проводили на лабораторных крысах линии Вистар массой тела  $180 \pm 10$  г.

Животные были распределены по группам (в каждой группе было по 10 крыс) в зависимости от характера кормления: 1-я группа — общевиварный корм (ОВК) — интактный контроль, 2-я группа — ОВК и колбаса без добавок в соотношении 1:1 — контроль (К) и 3-я группа ОВК и колбаса в соотношении 1:1, содержащей лактулозу и пищевые волокна. ОВК включал пшеницу, семена подсолнечника, просо, хлопья ячменные, хлопья кукурузные, овсянка, ячмень, горох плющены, арахис, плоды рожкового дерева, воздушная кукуруза. Суточная потребность в кормах для взрослой крысы составляет 30–32 г. Расчет минимального потребления колбасы для получения лечебного эффекта для крыс составил 13 г колбасы на 100 г массы тела животных в день [9,10].

Животные получали указанное питание на фоне обычного водного режима ежедневно, в течение 21 дня. Через 24 ч после последнего кормления крыс выводили из эксперимента декапитацией, извлекали дистальные участки толстой кишки, сразу фиксировали биоматериал в 10 % нейтральном растворе формалина и заливали в парафин по общепринятой методике [11].

Исследование проводили на депарафинированных срезах толщиной 5–7 мкм, изготовленных на роторном микротоме окрашенных: альциановым синим, гематоксилином Эрлиха и эозином — для гистологического, гистохимического и морфометрического исследования; акридиновым оранжевым — для бактериоскопического выявления кампилобактеров; основным фуксином по Циль-Нильсену — для выявления криптоспоридий [12,13].

Изучение микроструктурных препаратов и их фотографирование проводили на световом микроскопе «Jenaval» (Германия) с подключенной компьютерной системой анализа изображения «ВидеоТесЕ» с использованием программы «Морфо — 4,0» [11].

Для объективизации морфологического изучения слизистой оболочки толстой кишки (СОТК) проводили морфометрическую оценку состояния эпителиального пласта и собственной пластинки слизистой оболочки толстой кишки по 18 параметрам по общепринятым методикам в ПНИЛ медицинской цитологии Российской медицинской академии последипломного образования Министерства здравоохранения РФ при непосредственном участии заведующей лабораторией д.м.н., проф. Щербаковой Э.Г. и д.м.н. Щербакова И.Т. [14,15].

Результаты обрабатывали общепринятыми методами вариационной статистики с определением средней арифметической ( $M$ ), отклонений от средней арифметической ( $m$ ), коэффициента достоверности различий ( $t$ ) с определением достоверного интервала  $p$ . Различия показателей считали достоверными при  $t \geq 2$  ( $p \geq 0,05$ ).

## Результаты

Перед началом экспериментов проводили внешний осмотр животных. Сохранность всех животных была полной (100 %) в течение всего срока опыта. При проведении исследования хронической токсичности все кормовые смеси готовили «ex tempore». В ходе эксперимента анализировали поведенческие реакции крыс, их внешний вид, а также массу тела и ее среднесуточный прирост. В течение всего эксперимента у контрольных и опытных животных не отмечено каких-либо различий в поведенческих реакциях.

Гистологические исследования материала от крыс 1-й группы, получавших ОВК, показало, что состояние толстой кишки не отличалось от физиологической нормы. Просвет толстой кишки имел фестончатые очертания. Толщина слизистой оболочки толстой кишки приведена в (Табл. 1).

У животных 2-й группы, получавших общеварварный корм и колбасу в соотношении 1:1, просвет толстой кишки оставался фестончатым, аналогичным таковому в интактном контроле. Толщина СОТК также достоверно не изменилась.

В наложениях слизи на поверхностном эпителии СОТК при окраске акридиновым оранжевым выявлялись кампилобактерии в количестве 20–40 микробных клеток в поле зрения.

Поверхностные каемчатые эпителиоциты имели цилиндрическую форму, отсутствовали признаки дистрофии. Нормохромные ядра этих клеток базально расположены в цитоплазме, кислые гликозаминогликанам (ГАГ) слабо окрашивались альциановым синим. Поверхностные эпителиоциты (ПЭ) представлены бокаловидными экзокриноцитами (мукоциты), которые находились в состоянии умеренной секреторной активности, а кислые ГАГ в их цитоплазме окрашивались весьма интенсивно. В поверхностном эпителии обнаруживались также межэпителиальные лимфоциты (лимфоциты ПЭ), количество которых составляло  $15,0 \pm 2,3$  %, и некоторое количество ( $0,5 \pm 0,96$  %) эозинофильных гранулоцитов.

Кишечные железы контрольной группы животных имели трубчатую форму и тесно прилегали друг к другу в толще слизистой оболочки толстой кишки; их длина составляла в среднем 275 мкм. Просвет почти всех кишечных желез был заполнен альцианопозитивным секретом, содержащим сульфомуцины, относящиеся к гликозаминогликанам.

Столбчатые эпителиоциты крипты кишечных желез (эпителиоциты крипты — ЭК) не имели дистрофических изменений. В цитоплазме этих клеток нормохромные ядра имели типичное базальное расположение, кислые ГАГ слабо окрашивались альциановым синим. Бокаловидные экзокриноциты ЭК составляли  $21,3 \pm 5,5$  % среди эпителиоцитов крипты и умеренно секретировали слизь, интенсивно окрашивающуюся альциановым синим. Содержание межэпителиальных лимфоцитов в эпителиальном пласте кишечных желез (лимфоциты ЭК) составляло  $12,3 \pm 4,6$  %. Частота митозов в эпителии кишечных желез (митозы в ЭК) составила  $0,6 \pm 0,08$  %.

Базальная мембрана поверхностного эпителия и кишечных желез была тонкой, с нечеткими границами; кислые ГАГ в ней слабо окрашивались альциановым синим.

В Табл. 1 представлены данные плотности клеточного инфильтрата в собственной пластинке (строме) слизистой оболочки толстой кишки животных контрольной группы и был представлен, в основном, макрофагами, лимфоцитами, плазмоцитами, также фиброцитами, фибробластами и эозинофильными гранулоцитами. Кровеносные сосуды микроциркуляторного русла собственной пластинки СОТК не имели каких-либо особенностей, ядра их эндотелиоцитов были округлыми, нормохромными.

В наложениях слизи на поверхностном эпителии слизистой оболочки толстой кишки при окраске акридиновым оранжевым выявлялись кампилобактеры в количестве 20–40 микробных клеток в поле зрения. Криптостридии не выявлялись.

Таблица 1. Влияние колбасы и колбасы, обогащенной лактулозой, на морфофункциональное состояние слизистой оболочки толстой кишки у крыс линии Вистар

№	Морфометрические параметры	Группа 1 адаптационная норма (АН) (ОВК) интактный- контроль <i>n</i> =10	Группа 2 (ОВК + колбаса без добавок) (К) <i>n</i> =10	Группа 3 (ОВК + колбаса+лактулоза+ пищевые волокна) <i>n</i> =10		
				<i>M</i> ± <i>m</i>	<i>M</i> ± <i>m</i>	<i>t</i> <sub>2/1</sub>
1	Толщина слизистой оболочки, мкм Поверхностный эпителий (ПЭ):	392±106	286±145	—	274±42,8	—
2	Высота поверхностных эпителиоцитов, мкм	21,3±2,1	22,9±5,2	—	30,0±3,1	<sup>2,4</sup> <i>p</i> <0,05
3	Бокаловидные экзокриноциты ПЭ,%	7,3±4,1	6,1±3,2	—	5,3±1,9	—
4	Лимфоциты ПЭ,%	15,0±2,3	11,4±3,8	—	15,0±1,8	—
5	Эозинофильные гранулоциты ПЭ,%	0,5±0,06	0,7±0,09	—	—	<sup>0,8</sup> <i>p</i> >0,05
<b>Кишечные железы:</b>						
6	Глубина крипта, мкм	275±24	199±41	—	252±35	—
7	Высота эпителиоцитов крипты (ЭК), мкм	17,1±2,1	15,4±2,6	—	16,3±1,6	—
8	Бокаловидные экзокриноциты ЭК,%	21,3±5,5	28,4±11,0	—	32,4±18,7	—
9	Лимфоциты ЭК,%	12,3±4,6	9,2±1,8	—	12,4±4,0	—
10	Митозы в ЭК,%	0,6±0,08	0,9±0,1	<sup>2,9</sup> <i>p</i> <0,01	1,1±0,04	<sup>5,6</sup> <i>p</i> <0,001
<b>Клеточный инфильтрат стромы:</b>						
11	Плотность клеточного инфильтрата, кл/мм <sup>2</sup>	18933±940	23200±1679	<sup>2,2</sup> <i>p</i> <0,05	16800±671	<sup>1,8</sup> <i>p</i> <0,001
12	Лимфоциты инфильтрата, кл/мм <sup>2</sup>	3957±159	5638±486	<sup>3,2</sup> <i>p</i> <0,01	4855±261	<sup>2,9</sup> <i>p</i> <0,01
13	Плазмоциты инфильтрата, кл/мм <sup>2</sup>	2600±310	2645±360	—	4099±416	<sup>2,9</sup> <i>p</i> <0,01
14	Макрофаги инфильтрата, кл/мм <sup>2</sup>	4576±159	4501±604	—	1719±501	<sup>5,4</sup> <i>p</i> <0,05
15	Фибробласты, кл/мм <sup>2</sup>	3212±469	4779±380	<sup>2,6</sup> <i>p</i> <0,05	3237±479	—
16	Фиброциты, кл/мм <sup>2</sup>	3465±310	3642±798	—	2251±825	—
17	Эозинофильные гранулоциты, кл/мм <sup>2</sup>	1111±469	1995±701	—	655±282	—
<b>Микроорганизмы</b>						
18	Кампилобактерии, (кл. в поле зрения)	(++)	<sup>60-80</sup> <i>p</i> <0,05	> AN	10-20	< AN <i>p</i> <0,05
19	Криптоспоридии (кл. в поле зрения)	0	<sup>0-10</sup> <i>p</i> <0,05	—	0 <i>p</i> <0,05	0 <i>p</i> <0,05

У животных 2-й группы, получавших общевиваренный корм и колбасу без добавок, просвет толстой кишки оставался фестончатым, аналогичным таковому в интактном контроле. Толщина СОТК также достоверно не изменялась.

Оставались близкими к адаптационной норме основные параметры, отражающие состояние поверхностного эпителия слизистой оболочки толстой кишки — форма и размеры поверхностных каемчатых эпителиоцитов, расположение и характер окрашивания их ядер и цитоплазмы. Бокаловидные экзокриноциты поверхностных эпителиоцитов умеренно секрециировали альцианпозитивную слизь, состоящую из кислых ГАГ. Близким к норме было также процентное содержание межэпителиальных лимфоцитов и эозинофильных гранулоцитов в поверхностном эпителии (Табл. 1).

Кишечные железы имели обычное расположение, не выявлено изменений заполненности их просвета альцианпозитивным секретом по сравнению с контролем. Глубина крипта также существенно не изменялась, хотя прослеживалась некоторая тенденция к снижению этого показателя. Не выявлено достоверных отклонений показателей состояния столбчатых эпителиоцитов (высота клеток, отсутствие дистрофических изменений, базальное расположение нормохромных ядер, слабое окрашивание кислых ГАГ в цитоплазме), а также процентного содержания бокаловидных экзокриноцитов ЭК, которые умеренно секрециировали альцианпозитивную слизь. Существенно возросла лишь частота митозов в герминативных зонах эпителия кишечных желез.

Базальная мембрана поверхностного и железнистого эпителия в слизистой оболочке толстой кишки

животных этой группы была тонкой и имела четкие контуры.

В собственной пластинке СОТК крыс второй группы под влиянием кормления смесью общевиварного корма и колбасы, отмечено достоверное возрастание плотности клеточного инфильтрата в контроле на 22,5 % за счет увеличения лимфоцитов на 42,5 % и фибробластов на 48,8 %. При этом в составе инфильтрата не было существенных изменений количества плазмоцитов, макрофагов и фибробластов и имелась лишь небольшая тенденция к увеличению числа эозинофильных гранулоцитов. Сосуды микроциркуляторного русла собственной пластиинки слизистой оболочки толстой кишки были умеренно полнокровны, но не расширены. Стенка сосудов, так же как и ядра эндотелиоцитов не имели каких-либо особенностей.

В наложениях слизи на поверхностном эпителии увеличивалось количество кампилобактерий до 60–80 клеток в поле зрения и появлялись единичные криптоспоридии (до 10 клеток в поле зрения).

В основной (3-й) группе крыс, в корм которых была введена колбаса, обогащенная лактулозой, морфометрические параметры поверхностного и крипタルного эпителия СОТК в 78 % случаев были близки к контролю и в 90 % случаев достоверно не отличались от показателей во 2-й группе (Табл. 1).

Просвет толстой кишки животных этой группы имел обычные фестончатые очертания. Поверхностные каемчатые эпителиоциты цилиндрической формы не имели признаков дистрофии и даже увеличивались по высоте примерно на 40,8 % по сравнению с контролем. Их нормохромные ядра имели типичное базальное расположение в цитоплазме, слабо окрашиваемой альциановым синим. Бокаловидные экзокриноциты клеток поверхностного эпителия активно продуцировали альцианпозитивную слизь, которая окрашивалась весьма интенсивно. Процентное содержание лимфоцитов ПЭ существенно не отличалось от показателей в контроле и в группе животных, получавших с кормом колбасу без лактулозы.

Трубчатые кишечные железы СОТК крыс 3-й группы тесно располагались в собственной пластиинке СОТК, их просвет был заполнен альцианпозитивным ГАГ- содержащим секретом. Глубина крипта ( $252 \pm 35$  мкм) и высота крипタルных эпителиоцитов ( $16,3 \pm 1,6$  мкм) были на физиологическом уровне, содержание бокаловидных экзокриноцитов в эпителии крипты составило  $32,4 \pm 18,7$  % и мукоциты интенсивно продуцировали альцианпозитивную слизь. Частота митозов в эпителии крипты составила  $1,1 \pm 0,04$  %. Эозинофильные гранулоциты не были выявлены ни в крипталном, ни в поверхностном эпителии СОТК. Базальная мембрана поверхностного и железистого эпителия была тонкой и имела четкие контуры.

Более значительные изменения под влиянием включения в корм колбасы, обогащенной лактулозой,

развивались в клеточном инфильтрате собственной пластиинки слизистой оболочки толстой кишки.

По сравнению с животными 2-й группы, получавшими ОВР и колбасу без лактулозы, отмечено достоверное снижение плотности клеточного инфильтрата на 38,1 % и приближение этого показателя к адаптационной норме. Существенно изменилось соотношение клеток инфильтрата собственной пластиинки СОТК. Снижение его плотности по сравнению с предыдущей группой происходило за счет уменьшения количества макрофагов, фибробластов и трехкратного уменьшения количества эозинофильных гранулоцитов (Табл. 1). При этом количество лимфоцитов в клеточном инфильтрате было на уровне  $4855 \pm 261$  кл/мм<sup>2</sup>, а число плазмоцитов возросло примерно в 1,5 раза по сравнению с 1-й и 2-й группами.

После применения корма, обогащенного лактулозой, контаминация СОТК кампилобактериями была минимальной (10–20 микробных клеток в поле зрения), а криптоспоридии не обнаруживались [16].

## Обсуждение

Проведенные исследования показали, что у крыс линии Вистар введение в общевиварный корм колбасы (животного корма) способствует повышению антигенной нагрузки на организм, о чем свидетельствует увеличение плотности клеточного инфильтрата стромы слизистой оболочки толстой кишки за счет содержания в нем лимфоцитов и фибробластов, а также возрастание обсемененности толстой кишки условно патогенными микроорганизмами (кампилобактериями) и простейшими (криптоспоридиями).

У крыс опытной группы, получавших колбасу, обогащенную лактулозой, межгрупповые различия по сравнению с контролем (адаптационной нормой), были достоверными по 27,8 % учитываемых морфометрических параметров состояния слизистой оболочки толстой кишки. Отмечалось значимое увеличение высоты эпителиоцитов поверхностного эпителия, возрастание частоты митозов в эпителии крипты кишечных желез (с  $0,6 \pm 0,08$  % до  $1,1 \pm 0,04$  %) и тенденция к повышению содержания бокаловидных экзокриноцитов (с  $21,3 \pm 5,5$  % до  $32,4 \pm 18,7$  %), при этом мукоциты интенсивно продуцировали альцианпозитивную слизь. Это свидетельствует о стимулирующем влиянии колбасы, обогащенной лактулозой, на функциональное состояние поверхностного эпителия и кишечных желез слизистой оболочки толстой кишки.

В составе лимфоплазмоцитарного инфильтрата собственной пластиинки слизистой оболочки толстой кишки под влиянием лактулозы происходило перераспределение клеток, характеризующееся достоверным уменьшением количества антигенпрезентирующих клеток — макрофагов — на фоне возрастания количества лимфоцитов и плазмоцитов по сравнению с контролем.

Колбаса, обогащенная лактулозой, мало влияла на морфофункциональное состояние поверхностного эпителия и кишечных желез, — при ее применении отмечалась лишь тенденция к повышению митотической активности в эпителии крипт и отсутствовали эозинофильные гранулоциты в поверхностном эпителии слизистой оболочки толстой кишки. Наибольшие различия между этими группами касались состава клеточного инфильтрата стромы СОТК.

Лактулоза в составе смешанного (общеваренного и животного) корма индуцировала достоверное снижение клеточной плотности инфильтрата стромы слизистой оболочки толстой кишки за счет значительного снижения содержания в нем макрофагов, фибробластов и эозинофилов по сравнению с таковыми при применении колбасы без лактулозы. Количество макрофагов было в 2,6–2,67 раза ниже, чем во 2-й группе и в контроле. Отмечена также выраженная тенденция к снижению числа эозинофильных гранулоцитов — в клеточном инфильтрате их выявлялось почти втрое меньше, чем во 2-й группе. Это может служить показателем уменьшения антигенной нагрузки, постоянно существующей при использовании как общеваренного корма, так и при введении в его состав не физиологических для крыс продуктов животного происхождения (колбасы).

Снижению антигенной нагрузки при добавлении в состав корма колбасы, обогащенной лактулозой, способствует также меньшая контаминация слизистой оболочки толстой кишки кампилобактериями и криптоспоридиями. Лактулоза улучшает их элиминацию из кишечника благодаря стимулирующему влиянию на рост и размножение бифидо- и лактобактерий — важнейших представителей нормальной кишечной микрофлоры, ответственных за обеспечение колонизационной резистентности слизистой оболочки толстой кишки и обладающих антагонистической активностью в отношении многих условно патогенных микроорганизмов.

В клеточном инфильтрате стромы слизистой оболочки толстой кишки животных 3-й группы примерно в 1,5 раза возрастало количество плазмоцитов по сравнению как с группой животных, получавших колбасу без лактулозы, так и с контролем. Такая плазмоцитарная реакция на фоне снижения антигенной нагрузки свиде-

тельствует о стимуляции клеточных факторов местного иммунитета слизистой оболочки толстой кишки.

На основании результатов исследований влияния пищевых свекловичных волокон и лактулозы, содержащихся в рационе крыс в толстом и тонком кишечнике зафиксировано на порядок большее количество бифидо- и лактобактерий в сравнении с контрольной группой животных. Одновременно установлено, что в толстом кишечнике у животных получавших экспериментальную колбасу на порядок выше количество лактобактерий.

## Выходы

На основании морфометрических, гистохимических и бактериоскопических исследований установлено влияния общеваренного корма с добавлением вареной колбасы без добавок и содержанием свекловичных пищевых волокон и лактулозы на морфофункциональное состояние слизистой оболочки толстого кишечника крыс показали, что включение в общеваренный корм колбасы индуцирует перестройку состава клеточного инфильтрата собственной пластинки слизистой оболочки толстой кишки, что свидетельствует о возрастании антигенной нагрузки на организм крыс и способствует контаминации кишечника кампилобактерами и криптоспоридиями.

Полученные в ходе экспериментальных исследований данные свидетельствуют, что в группе животных получавших общеваренный корм, включающий вареную колбасу с пищевыми волокнами и лактулозой в толстом и тонком кишечнике зафиксировано больше бифидобактерий, чем в группах опытных крыс получавших общеваренный рацион и корм с вареной колбасой без добавок. Одновременно установлено, что в толстом кишечнике у животных получавших экспериментальную колбасу количество лактобактерий на порядок выше в других группах.

На основании полученных данных можно сделать заключение, что свекловичные пищевые волокна и лактулоза оказывают корректирующее воздействие на микробиоценоз толстого кишечника крыс, что дает основание рекомендовать их к применению в мясных продуктах с профилактической направленностью.

## Introduction

Studies in our country and abroad have shown that, food is a source of natural food components, which have not only nutritional value, but also regulate numerous functions and reactions of the body.

It is known that, many diseases in humans are associated with the violation of normal intestinal microflora, which necessitates research on the development of therapeutic and preventive food, restoring it.

The most perspective direction of this problem solution is the creation of functional products, which include food fibers (FF) and other elements, belonging to the category of functional nutrition [1,2]. The lack of food fibers in products brings to the decreasing of the human body resistance to the environment, the deterioration in the metabolism of carbohydrates in the gastrointestinal tract, the development of cancer, and the decreasing of the cardiovascular work and digestive systems [3].

There are necessary substances for stabilizing of the normal intestinal microflora, with bifidogenic action, which provide the microflora by a source of carbon and energy [4]. As a bifidogenic material, in our country, lactulose received the greatest distribution [5]. Lactulose was the first, artificially produced compound, introduced into wide practice as a bifidogenic factor.

Last years in the publications appeared the information about certain relationships in the intestine between plant fibers and microflora [6]. It was shown, in performed researches, that food fiber and lactulose do not alter the organoleptics of products, but at the same time give them positive properties characteristic of these ingredients [7].

However there is no information about the influence of meat products containing food fibers and lactulose on the morphofunctional state of the intestinal mucosa in the available publications.

Taking into account these circumstances, there were performed researches conducted on the use of beet fibers and lactulose in the formulation of boiled sausage for restoring the beneficial microflora of the colon of experimental animals.

The aim of this work were comparative morphometric, histochemical and bacterioscopic researches of the boiled sausage effect without additives and sausage enriched with food fibers and lactulose on the morphofunctional state of the mucous membrane of the large intestine of rats.

## Materials and methods

The researches were performed with a domestic concentrate of clarified food beet fibers on the base of sugar beet and lactulose syrup «Laktusan» synthesized from lactose special for the food industry of JSC «Felicata» (Moscow).

As an object of the study was chosen boiled sausage «Diabetic». Initially experimentally was fixed the number of injected hydrated 1:5 beet fibers in the amount of 10% to the mass of mince and lactulose in the amount of 640 mg/kg of mince in the formulation of sausages with aim to preserve the traditional organoleptic properties of the product [8].

Morphological and bacterioscopic researches were performed on laboratory rats of the Wistar line weighing  $180 \pm 10.0$  g.

The animals were divided into groups (each group had 10 rats) depending on the nature of feeding: group 1-General food (GF) — intact control, group 2 — GF and sausage without additives in the ratio 1:1-control (K) and group 3 — GF and sausage in the ratio 1:1, containing lactulose and food fibers. There were included in GF wheat, sunflower seeds, millet, barley flakes, corn flakes, oatmeal, barley, flattened peas, peanuts, carob fruits, popcorn. The daily requirement for feed for adult rats is 30–32 g. The calculation of the minimum consumption of sausage for therapeutic effect for rats was 13 g of sausage per 100 g of body weight per day [9,10].

The animals received the indicated feed on the background of the usual water regime every day, during 21 day.

24 hours after the last feeding, rats were removed from the experiment by the decapitation, distal portions of the colon were extracted, the biomaterial was immediately fixed in 10% neutral formalin solution and poured into the wax by conventional method [11].

The research was performed on dewaxed slices 5–7 mcm thick, made on a rotary microtome painted with: alcyan blue, Erlich hematoxylin and eosin — for histological, histochemical and morphometric research; acridine orange — for bacterioscopic detection of campylobacters; basic fuchsine by ZIEHL-NEELSEN — for the detection of cryptosporidia [12,13].

The microstructural study of drugs and their photography was performed on a light microscope «Jenaval» (Germany) connected with computer system of image analysis «VedeTesE» using the software «Morpho — 4,0» [11].

To obtain more objective morphological study of the mucous membrane of the colon (MMC) conducted the morphometric assessment of epithelial layer and lamina propria of the mucous membrane of the colon by 18 parameters conventional techniques in the PNYL laboratory of medical Cytology Russian medical Academy of post-graduate education of the Ministry of Health of the Russian Federation with the direct participation of the head of laboratory, MD, Professor E.G. Shcherbakova and MD I.T. Shcherbakov [14,15].

The results were processed by standard methods of variation statistics with the definition of average arithmetic ( $M$ ), the deviations from the average arithmetic mean ( $m$ ), significance coefficient of differences ( $t$ ) with the definition of a credible interval  $p$ . the Differences of the indicators were considered to be significant with  $t \geq 2$  ( $p \geq 0,05$ ).

## Results

Before starting the experiment were conducted the external examination of the animals. The safety of all animals was complete (100%) during the whole period of the experiment. During the performing of the research chronic toxicity all feed mixtures were prepared «ex tempore». During the experiment were analyzed the behavioral reactions of rats, their appearance, and also the body weight and its average daily gain. During the whole experiment no differences in behavioral reactions were observed in control and experimental animals.

Histological studies of the material from the rats of the 1st group, which had been receiving GF, showed that the state of the colon did not differ from the physiological norm. The lumen of the colon had a scalloped shape. The thickness of the mucous membrane of the colon is given in (Table 1).

In 2<sup>nd</sup> group of animals, receiving General Food and sausage in the ratio 1:1, the lumen of the colon remained scalloped, similar to that in intact control. The thickness of the mucous membrane of the colon (MMC) is also not significantly changed.

In the superimpositions of mucus on the surface of epithelium of the mucous membrane of the colon (MMC) by

Table 1. The effect of sausages and sausages, enriched with lactulose, on the morphofunctional state of the mucous membrane of the colon of rats Wistar line

№	Morphometric parameters	Group 1 adaptive norm (AN) (GF) the intact control <i>n</i> =10	Group 2 (GF+ sausage) (K) <i>n</i> =10	Group 3 (GF+ sausage + lactulose) <i>n</i> =10		
		<i>M</i> ± <i>m</i>	<i>M</i> ± <i>m</i>	<i>t</i> <sub>2/1</sub>	<i>M</i> ± <i>m</i>	<i>t</i> <sub>3/1</sub>
1	The thick-ness of the mucous membrane, µm Surface epithelium (PE):	392±106	286±145	—	274±42,8	—
2	The height of surface epithelial cells, µm	21,3±2,1	22,9±5,2	—	30,0±3,1	<sup>2,4</sup> <i>p</i> <0,05
3	Goblet ekzokrinn PE, %	7,3±4,1	6,1±3,2	—	5,3±1,9	—
4	Lymphocytes PE, %	15,0±2,3	11,4±3,8	—	15,0±1,8	—
5	Eosinophilic granulocytes PE, %	0,5±0,06	0,7±0,09	—	—	<sup>0,8</sup> <i>p</i> >0,05
Intestinal glands:						
6	Crypt depth, µm	275±24	199±41	—	252±35	—
7	Height of the epithelial cells of the crypts (EK), µm	17,1±2,1	15,4±2,6	—	16,3±1,6	—
8	Goblet ekzokrinn EK, %	21,3±5,5	28,4±11,0	—	32,4±18,7	—
9	Lymphocytes EK, %	12,3±4,6	9,2±1,8	—	12,4±4,0	—
10	Mitosis in EK, %	0,6±0,08	0,9±0,1	<sup>2,9</sup> <i>p</i> <0,01	1,1±0,04	<sup>5,6</sup> <i>p</i> <0,001
Cell infiltration of the stroma:						
11	The density of cell infiltration, cl/mm <sup>2</sup>	18933±940	23200±1679	<sup>2,2</sup> <i>p</i> <0,05	16800±671	<sup>1,8</sup> <i>p</i> <0,001
12	Lymphocytes infiltration, cl/mm <sup>2</sup>	3957±159	5638±486	<sup>3,2</sup> <i>p</i> <0,01	4855±261	<sup>2,9</sup> <i>p</i> <0,01
13	Plasma cells infiltration, cl/mm <sup>2</sup>	2600±310	2645±360	—	4099±416	<sup>2,9</sup> <i>p</i> <0,01
14	Macrophages infiltration, cl/mm <sup>2</sup>	4576±159	4501±604	—	1719±501	<sup>5,4</sup> <i>p</i> <0,05
15	Fibroblasts, cl/mm <sup>2</sup>	3212±469	4779±380	<sup>2,6</sup> <i>p</i> <0,05	3237±479	— <sup>2,5</sup> <i>p</i> <0,05
16	Fibroblasts, cl/mm <sup>2</sup>	3465±310	3642±798	—	2251±825	—
17	Eosinophilic granulocytes, cl/mm <sup>2</sup>	1111±469	1995±701	—	655±282	— <i>p</i> >0,05
Microorganisms						
18	Campylobacter, (cl in field of view)	(++)	<sup>60-80</sup> <i>p</i> <0,05	> AN	10-20	< AN <i>p</i> <0,05
19	Cryptosporidium, (cl in field of view)	0	<sup>0-10</sup> <i>p</i> <0,05	—	0 <i>p</i> <0,05	0 <i>p</i> <0,05

acridine orange colouring were detected campylobacteria in the amount of 20–40 microbial cells in the field of vision.

Surface edematous epithelial cells had a cylindrical shape, there were no signs of dystrophy. Normochromic nuclei of these cells are basally located in the cytoplasm, acid glycosaminoglycans (GAG) poorly stained with alcyan by blue. Superficial epithelial cells (PE) presents a goblet ekzokrinn (mucosal) that were in a state of moderate secretory activity, and the sour GAG in their cytoplasm stained very intensively. Interepithelial lymphocytes (PE lymphocytes) were also found in the surface epithelium, the amount of which was 15.0±2.3%, and a certain amount (0.5±0.96%) of eosinophilic granulocytes.

Intestinal glands of the control group of animals had a tubular shape and closely adjoined to each other in the thickness of the mucous membrane of the colon; their length averaged 275 mkm. The lumen of almost all intesti-

nal glands was filled allenopithecus secret, containing sulfocacids, related to glycosaminoglycan.

The columnar epithelial cells of the crypts of intestinal glands (epithelial cells of crypts — EC) had no degenerative changes. In the cytoplasm of these cells normochromic nucleus had a typical basal arrangement, acid glycosaminoglycans (GAG) poorly stained with alcyan by blue. Goblet ekzokrinn EK constituted 21.3±5.5% among the epithelial cells crypts and moderately secreted mucus, intensely painted by blue altianalis. The content of interepithelial lymphocytes in the epithelial formation of the intestinal glands (lymphocytes EK) was 12.3±4.6%. The frequency of mitosis in the epithelium of the intestinal glands (mitosis in the EC) was 0.6±0.08%.

The basal membrane of the superficial epithelium and intestinal glands was thin, with indistinct borders; acid glycosaminoglycans (GAG) poorly painted with alcyan by blue in it.

In Table 1 shows the density of the cellular infiltrate in the lamina propria (stroma) of the animals mucosa of the colon of the control group was represented mainly by macrophages, lymphocytes, plasmocytoma also fibrocytes, fibroblasts and eosinophilic granulocytes. The blood vessels of the microvasculature lamina propria the mucous membrane of the colon (MMC) did not have any features, the nucleus of the endothelial cells were rounded, normochromic.

In mucus overlays on the superficial epithelium of the colon mucosa during the painting acridine by orange were detected campylobacters in the amount of 20–40 microbial cells in the field of vision. Cryptostegia was not detected.

In animals of the 2nd group, which received General Food and sausage without additives, the lumen of the colon remained scalloped, similar to that in intact control. The thickness of the mucous membrane of the colon (MMC) is also not significantly changed.

The main parameters reflecting the state of the superficial epithelium of the colon mucosa remained close to the adaptive norm — the shape and size of the superficial edematous epithelial cells, the location and nature of the staining of their nuclei and cytoplasm. Goblet ekzokrinn surface epithelial cells were moderately secreted allopathically mucilage, composed from acid glycosaminoglycans (GAG). Close to norm was also the percentage of interepithelial lymphocytes and eosinophilic granulocytes in the superficial epithelium (Table 1).

Intestinal glands had the usual location, there were no changes revealed in the occupancy of the lumen alenopithecus secret in compare with control. The depth of crypts also did not change significantly, although there was some tendency of this indicator decrease. There were no significant deviations in the state of columnar epithelial indicators of cells (the height of the cells, the absence of degenerative changes, basal location normochromic nucleus, weak staining of acid glycosaminoglycans (GAG) in the cytoplasm) and the percentage of goblet ekzokrinn EK, which were moderately secreted the allopathicall mucus. The frequency of mitosis significantly increased in germ zones of the epithelium of intestinal glands.

The basal membrane of the superficial and glandular epithelium in the animals mucous membrane of the colon of this group was thin and had clear contours.

In the lamina propria of the mucous membrane of the colon (MMC) rats of the second group is influenced by feeding a mixture of General Food and sausage, showed a significant increase of density of the cellular infiltration in the control on 22.5 % because of increase of lymphocytes for 42.5 % and fibroblasts on 48,8 %. At the same time, there were no significant changes in the number of plasmocytes, macrophages and fibroblasts in the infiltration composition and there was only a slight tendency to the number of eosinophilic granulocytes increasing. The vessels of the microcirculatory bed of the own plate of the mucous membrane of the colon were moderately full-blooded, but not

expanded. Wall vessels, as well as the nucleus of the endothelial cells did not have any specifics.

In mucus overlays on the superficial epithelium the number of campylobacteria increased to 60–80 cells in the field of vision and appeared single cryptosporidia (up to 10 cells in the field of vision).

In the main (3rd) group of rats, in whose feed sausage enriched with lactulose was introduced, morphometric parameters of surface and cryptal epithelium of the mucous membrane of the colon (MMC) in 78 % of cases were close to control and in 90 % of cases did not differ significantly from those in the 2nd group (Table 1).

The lumen of the colon of this animals group had normal scalloped shape. Surface edema epithelial cells of cylindrical shape had no signs of dystrophy and even increased in height on 40.8 % compared to the control. They normochromic nucleus had typical basal location in the cytoplasm, poorly painted altianalis by blue. The goblet ekzokrinn cells of the surface epithelium actively produced allopathically mucus, which stained very intensively. The percentage of lymphocytes PE did not differ significantly from the control group and group of animals, treated with sausage without lactulose in feed.

Tubular intestinal glands of the mucous membrane of the colon (MMC) rats of the 3rd group were closely located in the lamina propria of the mucous membrane of the colon (MMC), their lumen was filled allopathically glycosaminoglycans (GAG) secret containing. The depth of the crypts ( $252 \pm 35 \mu\text{m}$ ) and height kripalini epithelial cells ( $16.3 \pm 1.6 \mu\text{m}$ ) were at the physiological level, the content of the goblet ekzokrinn in the epithelium crypts was  $32.4 \pm 18.7 \%$  and the mucosal were intensively produced allopathically mucus. The frequency of mitosis in the epithelium crypts was  $1.1 \pm 0.04 \%$ . Eosinophilic granulocytes were not detected neither in the cryptal no in the surface of the mucous membrane of the colon (MMC epithelium. The basal membrane of the superficial and glandular epithelium was thin and had clear contours.

More significant changes under the influence of forage inclusion of the sausages in the food, enriched with lactulose, developed in the cellular infiltrate lamina propria of the mucosa of the colon.

In compare with the animals of the 2nd group, receiving GF and sausage without lactulose, there was a significant decrease in the density of cellular infiltration on 38.1 % and the approximation of this indicator to the adaptive norm. Significantly changed the ratio of cell infiltration of the lamina propria of the mucous membrane of the colon (MMC). The decrease in its density compared to the previous group was due to a decrease in the number of macrophages, fibroblasts and triple reduction in the number of eosinophilic granulocytes (Table 1). The number of lymphocytes in the cellular infiltration was  $4855 \pm 261 \text{ cl/mm}^2$ , and the number of plasma cells increased near in 1.5 times compare with the 1st and 2nd groups.

After application of the food, enriched with lactulose, contamination of the mucous membrane of the colon (MMC) with campylobacteria was minimal (10–20 microbial cells in the field of vision), and cryptosporidia was not detected [16].

## Discussion

Performed researches have shown that in rats of the Wistar line, the introduction of sausage (animal feed) into the General food helps to increase the antigenic load on the body, as evidenced by the increase in the density of cellular infiltration of the stroma of the colon mucosa due to the content of lymphocytes and fibroblasts in it, as well as the increase in colon contamination by conditionally pathogenic microorganisms (campylobacteria) and protozoa (cryptosporidia).

In rats of the experimental group, which received sausage, enriched with lactulose, intergroup differences in comparison with control (adaptive norm) were reliable on 27.8 % of the considered morphometric parameters of a condition of a mucous membrane of a colon. Were observed a significant increase in the height of epithelial cells of the surface epithelium, increase in the frequency of mitoses in the epithelium of the crypts of intestinal glands ( $0.6 \pm 0.08\%$  to  $1.1 \pm 0.04\%$ ) and a trend to increasing of the content of goblet association (from  $21.3 \pm 5.5\%$  to  $32.4 \pm 18.7\%$ ), while the mucosal were intensively produced allopathically mucus. This indicates the stimulating effect of sausage, enriched with lactulose, on the functional state of the superficial epithelium and intestinal glands of the colon mucosa.

Composed of lymphoplasmacytic infiltration of the lamina propria of the mucous membrane of the colon under the influence of lactulose has been a redistribution of cells, characterized by reliable reduction of the number of antigen-presenting cells — macrophages — in the context of increasing the number of lymphocytes and plasma cells in comparison with control.

Sausage, enriched with lactulose, had little effect on the morphofunctional state of the superficial epithelium and intestinal glands — when it was used, there was only a tendency of mitotic activity increase in the epithelium of crypts and there were no eosinophilic granulocytes in the superficial epithelium of the colon mucosa. The greatest differences between these groups affected the composition of the cellular infiltrate of the stroma of the mucous membrane of the colon (MMC).

Lactulose in the mixed (General food and animal) feed induced a significant decrease in the cellular density of stromal infiltration of the colon mucosa due to a significant decrease in the content of macrophages, fibroblasts and eosinophils in compare with those in the application of sausage without lactulose. The number of macrophages was in 2.6–2.67 times lower than in the 2nd group and in the control. Also was marked the tendency of the number of eosinophilic granulocytes decrease — in cellular infiltration they were revealed almost three times less than in

the 2nd group. It can serve as an indicator of reduction of antigenic load, ever-present when used as General Food, and the introduction of the physiological for rats of animal origin products (sausage).

Reduction of antigenic load added to the feed of sausage, enriched with lactulose, also contributes the less contamination of the mucous membrane of the colon by campylobacteria and Cryptosporidium. Lactulose improves their elimination from the intestine due to the stimulating effect on the growth and reproduction of bifido and lactobacteria — the most important representatives of normal intestinal microflora responsible for providing colonization resistance of the large intestine mucosa and having antagonistic activity against many conditionally pathogenic microorganisms.

The number of plasma cells increased in cell infiltrate of the stroma of the mucous membrane of the colon of the animals of the 3rd group in 1.5 times compared with animal group that received a sausage without lactulose, as with the control. Such plasmocytic reaction against the background of reduced antigenic load indicates stimulation of cell factors of local immunity of the colon mucosa.

Based on the performed researches of influence of food beet fibres and lactulose, contained in the food of the rats in the large and small intestines are fixed to the high level of bifido and lactobacteria in comparison with the control group of animals. Same time was found, that in the large intestine the number of lactobacilli was much higher in animals receiving experimental sausage.

## Conclusions

Based on the morphometric, histochemical and bacterioscopic studies, the influence of the General food with the addition of boiled sausage without additives and the content of beet fiber and lactulose on the morphological and functional state of the mucous membrane of the large intestine of rats showed that the inclusion of sausage in the General Food induces the restructuring of the cell infiltration of the own plate of the mucous membrane of the colon, this indicates the increase in antigenic load on the body of rats and promotes intestinal contamination with campylobacters and cryptosporides.

The data obtained in the course of experimental studies indicate that in the group of animals receiving General Food, including boiled sausage with dietary fibers and lactulose in the large and small intestine, more bifidobacteria was recorded, than in the groups of experienced rats receiving General Food diet and food with boiled sausage without additives. Same time was found that in the large intestine the number of lactobacteria in animals receiving experimental sausage was much higher in other groups.

Based on obtained data can conclude that the food beet fibers and lactulose exert a corrective influence on the microbiocenosis of the large intestine of rats, which gives reason to recommend them for using in meat products with preventive orientation.

## БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Вайнштейн, С.Г., Масик, А.М. (1984). Пищевые волокна и усвояемость нутриентов. *Вопросы питания*, 3, 6–12.
2. Толстогузов, В.Б. (1985). Роль химии в разработке перспективных методов получения пищевых продуктов. М, Знание. – 48 с.
3. Уголов, А.М. (1987). Естественные технологии биологических систем. Л, Наука. – 317 с.
4. Шендеров, Б.А., Манвелова, М.А. (1997). Функциональное питание и пробиотики: микроэкологические аспекты. М, Агар. – 24 с.
5. Российская лактулоза — XXI век. Научные основы, производство и использование. Под ред. Храмцова А.Г. 2000. М, МИИТ. 2000. – 110 с.
6. Crociani, F., Alessandrini, A., Mucci, M.M., Biavati, B. (1994). Degradation of complex carbohydrates by *Bifidobacterium* spp. *International Journal of Food Microbiology*, 24(1–2), 199–210.
7. Куприянов, В.А., Кудряшов, Л.С. (2002). Использование балластных веществ и лактулозы в производстве колбас. Международная научно-практическая конференция, посвященная памяти Василия Матвеевича Горбатова. М, ВНИИМП. 1, 56–59.
8. Колесников В.А., Молотилин Ю.И., Артемьев А.И., Лисицын А.Б., Кудряшов Л.С., Маликова В.И. (2001). Пищевые свекловичные волокна и возможность их использования в мясной промышленности. *Все о мясе*, 3, 6–8.
9. Гаспер, Г. (2010). Декоративные крысы. Содержание. Кормление. Разведение. Лечение/ Пер. с нем. С.Казанцевой. М, Аквариум Принт. – 64 с.
10. Белякина, Н.Е., Устинова, А.В., Хвыля, С.И., Сурнина, А.И. (2008). Медико-биологические аспекты применения пищевых волокон в функциональных продуктах на мясной основе. Международная научно-практическая конференция, посвященная памяти Василия Матвеевича Горбатова. М, ВНИИМП. 1, 36–40.
11. Хвыля, С.И. (2002). Научно-методические рекомендации по микроструктурному анализу мяса и мясных продуктов. М, РАСХН. – 42 с.
12. Леонтьева, Н.И., Щербаков, И.Т., Лиханская, Е.И., Грачева, Н.М., Филиппов, В.С., Виноградов, Н.А. (2017). Клинико-патогенетические аспекты криптоспоридиоза, современные методы лабораторной диагностики и лечения. *Гастроэнтерология Санкт-Петербурга*, № 1, 90–91.
13. Лилли, Р. (1969). Патогистологическая техника и практическая гистохимия. М, Мир. – 643 с.
14. Щербаков, И.Т., Леонтьева, Н.И., Грачева, Н.М., Виноградов, Н.А., Филиппова, О.А. (2017). Морфология слизистой оболочки желудка контаминированной хеликобактером криптоспоридиями и грибами рода *Candida* у пациентов с синдромом раздраженного кишечника. *Морфологические ведомости*, 1(25), 15–19.
15. Bancroft, J. D., Gamble, M. (2002). Theory and practice of histological techniques. Edinburgh; London; N. Y.: Churchill Livingstone. – 796 p.
16. Леонтьева, Н.И., Грачева, Н.М., Щербаков, И.Т., Хренников, Б.Н. (2012). Результаты применения некоторых уреазных экспресс-методов в лабораторной диагностике хеликобактериоза. Эпидемиология и инфекционные болезни. Актуальные вопросы, 4, 10–12.

## REFERENCES

1. Weinstein, S., Masik, M. A. (1984). Dietary fiber and nutrients digestibility. *Voprosy Pitaniia*, 3, 6–12. (In Russian)
2. Tolstoguzov, V. B. (1985). The Role of chemistry in the development of advanced methods of obtaining food. — M: Znanie. — 48 p. (In Russian)
3. Ugolev, A. M. (1987). Natural technologies of biological systems. L: Nauka. — 317 p. (In Russian)
4. Shenderov, B. A., Manvelova, M. A. (1997). Functional food and probiotics: microecological aspects. M: Agar. — 24p. (In Russian)
5. Russian lactulose — XXI century. Scientific basis, production and use. Under the editorship of Khramtsov A. G. M.: MIIT. 2000. — 119 p. (In Russian)
6. Crociani, F., Alessandrini, A., Mucci, M.M., Biavati, B. (1994). Degradation of complex carbohydrates by *Bifidobacterium* spp. *International Journal of Food Microbiology*, 24(1–2), 199–210.
7. Kupriyanov, V. A., Kudryashov, L. S. (2002). The Use of fibres and lactulose in the production of sausages. International scientific and practical conference dedicated to the memory of Vasily Matveyevich Gorbatov. Moscow: VNIIMP, 1, 56–59. (In Russian).
8. Kolesnikov, V. A., Molotilin, Y. I., Artemyev, A. I., Lisitsyn, A.B., Kudryashov, L. S., Malikova, V.I. (2001). Food beet fiber and the possibility of their use in the meat industry. *Vsyo o myase*, 3, 6–8. (In Russian)
9. Gasper, G. (2010). Decorative rats. Content. Feeding. Breeding. Treatment/ Ed.with it. S. Kuznetsova. M.: Aquarium Print. — 64 p.
10. Belyakina, N. E. Ustinova, A.V., Khvylya, S.I., Surnina, A.I. (2008). Medico-biological aspects of dietary fiber in functional foods based on meat. International scientific and practical conference dedicated to the memory of Vasily Matveyevich Gorbatov. Moscow: VNIIMP, 1, 36–40. (In Russian)
11. Khvylya, S. I. (2002). Scientific and methodical recommendations on microstructural analysis of meat and meat products. M: RASKHН. — 42 p. (In Russian)
12. Leontieva, N. I., Shcherbakov, I. T., Lihanskaya, E. I., Grachyova, N. M. Filippov, V. S., Vinogradov, N.A. (2017). Clinical and pathogenetic aspects of cryptosporidiosis, modern methods of laboratory diagnosis and treatment. *Gastroenterology of St Petersburg*, 1, 90–91. (In Russian)
13. Lilly, R. (1969). Pathohistological technique and practical histochemistry. M: Mir. — 643 p. (In Russian)
14. Shcherbakov, I.T., Leontieva, N.I., Grachyova, N.M., Filippov, V.S., Vinogradov N.A., Filippova O.A. (2017). The morphology of the mucous membrane of the stomach at its contamination of helicobacter, cryptosporidium and fungi of the species *Candida* in patients with irritable bowel syndrome *Morphological Newsletter*, 1(25), 15–19. (In Russian)
15. Bancroft, J. D., Gamble, M. (2002). Theory and practice of histological techniques. Edinburgh; London; N. Y.: Churchill Livingstone. — 796 p.
16. Leontieva, N.I., Gracheva, N.M., Shcherbakov, I.T., Khrennikov, B.N. (2012). The results of using some rapid urease tests in the laboratory diagnosis of helicobacter pylori infection. *Epidemiology and Infectious Diseases. Current Items*, 4, 10–12. (In Russian)

**СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ****Принадлежность к организации**

**Кудряшов Леонид Сергеевич** — доктор технических наук, профессор, главный научный сотрудник, Федеральный научный центр пищевых систем им. В.М. Горбатова РАН  
109316, г. Москва, ул. Талалихина, д. 26  
Тел.: +7-903-627-33-06  
e-mail:  
\* автор для переписки

**Куприянов Вадим Александрович** — кандидат технических наук, директор по региональным продажам, компания «Керри»  
143421, Московская область, Красногорский район, 26-й км автодороги «Балтия» БЦ «Ригаленд», стр. Б2  
Тел.: +7-985-997-27-94  
e-mail: vadim.kupriyanov@kerry.com

**Щербаков Иван Тимофеевич** — доктор медицинских наук, ведущий научный сотрудник патоморфологической группы клинического отдела, Московский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Г.Н. Габричевского  
125512, г. Москва, ул. Адмирала Макарова, д. 10  
Тел.: +7-495-380-20-19  
e-mail: 3802019@mail.ru

**Крылова Валентина Борисовна** — доктор технических наук, профессор, главный научный сотрудник направления «Технология консервированных и экструдированных продуктов питания» отдела научно-прикладных и технологических разработок, Федеральный научный центр пищевых систем им. В.М. Горбатова РАН  
109316, г. Москва, ул. Талалихина, 26.  
Тел. +7-495-676-74-01  
E-mail: krylova-vniiimp@yandex.ru

**Густова Татьяна Владимировна** — кандидат технических наук, доцент, ведущий научный сотрудник направления «Технология консервированных и экструдированных продуктов питания» отдела научно-прикладных и технологических разработок, Федеральный научный центр пищевых систем им. В.М. Горбатова РАН  
109316, г. Москва, ул. Талалихина, 26.  
Тел. +7-495-676-74-01  
E-mail: krylova-vniiimp@yandex.ru

**Критерии авторства**

Авторы в равных долях имеют отношение к написанию рукописи и одинаково несут ответственность за plagiat

**Конфликт интересов**

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов

Поступила 02.10.2017

**AUTHOR INFORMATION****Affiliation**

**Leonid S. Kudryashov** — doctor of technical sciences, professor, chief researcher, V.M. Gorbatov Federal Research Center for Food Systems of Russian Academy of Sciences  
109316, Moscow, Talalikhina str., 26  
Tel.: +7-903-627-33-06  
e-mail:  
\* corresponding author

**Vadim A. Kupriyanov** — candidate of technical sciences, Business Development Manager, The company «Kerry»  
143421, Moscow region, krasnogorskiy district, 26 km Baltiya Highway, RigaLand Centre, Bld. B2  
Tel.: +7-985-997-27-94  
e-mail: vadim.kupriyanov@kerry.com

**Ivan T. Scherbakov** — doctor of medical sciences, leading scientific worker, pathomorphological group of the clinical department, Moscow Research Institute of Epidemiology and Microbiology G. N. Gabrichevskiy  
125512, Moscow, Admiral Makarov str., 10  
Tel.: +7-495-380-20-19  
e-mail: 3802019@mail.ru

**Valentina B. Krylova** — doctor of technical sciences, professor, leading research scientist, the chief the Direction «The technology of production of canning» of the Department of Scientific Applied and Technological Developments, V.M. Gorbatov Federal Research Center for Food Systems of Russian Academy of Sciences  
109316, Moscow, Talalikhina str., 26  
Tel.: +7-495-676-74-01  
E-mail: krylova-vniiimp@yandex.ru

**Tatyana V. Gustova** — candidate of technical sciences, docent, leading research scientist of the Direction «The technology of canned and extruded food products» of the Department of Scientific Applied and Technological Developments, V.M. Gorbatov Federal Research Center for Food Systems of Russian Academy of Sciences  
109316, Moscow, Talalikhina str., 26  
Tel.: +7-495-676-74-01  
E-mail: krylova-vniiimp@yandex.ru

**Contribution**

Authors are equally relevant to the writing of the manuscript, and equally responsible for plagiarism

**Conflict of interest**

The authors declare no conflict of interest

Received 02.10.2017

# МИКРОКОМПОНЕНТЫ ПИЩЕВЫХ СИСТЕМ НА ОСНОВЕ ЖИВОТНОГО И ДРУГИХ ВИДОВ СЫРЬЯ. ОБЗОР

Иванкин А.Н.<sup>1,\*</sup> Вострикова Н.Л.<sup>2</sup>, Куликовский А.В.<sup>2</sup>, Олиференко Г.Л.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Московский государственный технический университет (национальный исследовательский университет)  
им. Н.Э. Баумана, Москва, Россия

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

**Ключевые слова:** пищевые системы, вкусо-ароматические компоненты, токсиканты

## Аннотация

Рассмотрены вопросы микрокомпонентного состава современных пищевых систем на основе природных видов сырья. Показано, что методы физико-химического анализа позволяют сегодня устанавливать наличие как полезных, так и небезопасных микропримесей с уровнем содержания в продукции от 0,001 до 1–2 мг/кг. Обсуждается влияние микроколичеств свободных амино- и жирных кислот, а также углеводов и витаминов на вкусо-ароматические характеристики систем. Рассмотрены некоторые аспекты наличия привнесенных микрокомпонентов, к которым отнесены пестициды, антибиотические и химиотерапевтические препараты, гормональные регуляторы, полиароматические углеводороды и некоторые другие токсиканты, а также микроингредиенты, образующиеся в продуктах под воздействием биохимических процессов при хранении. В качестве таких микроингредиентов рассматриваются биогенные амины и другие продукты трансформации макрокомпонентов.

Review paper

# MICROCOMPONENTS OF FOOD SYSTEMS BASED ON ANIMAL AND OTHER RAW MATERIALS. REVIEW

Andrew N. Ivankin<sup>1,\*</sup>, Natal'ya L. Vostrikova<sup>2</sup>, Andrey V. Kulikovskii<sup>2</sup>, Galina L. Oliferenko<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Bauman Moscow State Technical University, Moscow, Russia

<sup>2</sup> V.M. Gorbatov Federal Research Center for Food Systems of Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia

**Key words:** food systems, taste-aromatic components, ecotoxins

## Abstract

The problems of the microcomponent composition of modern food systems based on natural raw materials are considered. It is shown that modern methods of physical and chemical analysis make it possible to establish the presence of both useful and unsafe microimpurities with a level of their content in the production from 0.001 to 1–5 mg / kg. The effect of microquantities of free amino and fatty acids, as well as carbohydrates and vitamins, on the flavor and aromatic characteristics of systems is discussed. Some aspects of the presence of introduced microcomponents, which include pesticides, antibiotic and chemotherapeutic drugs, hormonal regulators, polyaromatic hydrocarbons and some other toxicants, as well as microingredients formed in products under the influence of biochemical processes during storage are considered. As such microingredients, biogenic amines and other products of transformation of macrocomponents are considered.

В состав современных пищевых систем входят как макро, так и микрокомпоненты. Сложность формирования современных систем на основе природного сырья заключается в необходимости получения пищевого продукта с удовлетворительными вкусо-ароматическими и безопасными для человека характеристиками, которые во многом связаны с компонентным составом микропримесей [1].

Составляющими микрокомпонентами таких систем и продуктов на их основе являются множество химических веществ, пул которых во многом предопределяет главное потребительское свойство пищевой продукции — её вкус [1]. Однако, часть таких веществ,

которая зачастую находится в матрице пищевой системы в следовых количествах, может представлять определенную опасность для человека и носить характер экотоксикантов [1,2,3,4].

Традиционное получение пищи заключается в использовании природного пищевого сырья, состоящего из основных питательных макрокомпонентов — белков, жиров и углеводов, содержание которых в продукте может составлять от нескольких до 90–95 % [2,3].

К микронутриентам пищевых систем следует относить все вещества, которые входят в состав продукта, вследствие разработанной рецептуры, а также сюда следует относить вещества, образовавшиеся в матри-

**ДЛЯ ЦИТИРОВАНИЯ:** Иванкин А.Н., Вострикова Н.Л., Куликовский А.В., Олиференко Г.Л. Микрокомпоненты пищевых систем на основе животного и других видов сырья. Обзор. Теория и практика переработки мяса. 2018;3(1):16–28. DOI 10.21323/2414-438X-2018-3-1-16-28

**FOR CITATION:** Ivankin A.N., Vostrikova N.L., Kulikovskii A.V., Oliferenko G.L. Microcomponents of food systems based on animal and other raw materials. Review. Theory and practice of meat processing. 2018;3(1):16–28. (In Russ.) DOI 10.21323/2414-438X-2018-3-1-16-28

це продукта в результате технологических операций, либо в результате развития биохимических превращений под воздействием остаточной ферментативной активности при длительном хранении [5,6].

Уровень содержания таких микрокомпонентов обычно составляет от 0,001% до 1–2%. Причем нижний количественный уровень обнаружения конкретного вещества во многом определяется минимальной чувствительностью применяемого аналитического метода идентификации. По этой причине, многие вещества пищи ранее практически не идентифицировались [1,7]. Развитие современных хроматографических методов анализа, методов иммунно-ферментных, а также хроматомасс-спектрометрии показывает, что в реальных пищевых системах уровень нахождения отдельных ингредиентов может составлять миллионные доли процента (ppm или даже ppb или ppt), однако влияние таких веществ, все равно, оказывается на вкусо-ароматической гамме продукции [7,8,9,10,11]. Часть таких веществ может позиционироваться как небезопасные и даже вредные примеси [12,13].

Микронутриенты пищевых систем состоят из разных групп химических веществ, которые находятся в сырье изначально как природные компоненты. Они также содержатся в сырье и продуктах как привнесенные вещества при химической обработке продукции в сельскохозяйственном производстве, типа пестицидов, консервантов, стабилизаторов, гормональных регуляторов. Микрокомпоненты также появляются в результате технологических операций и соответствующих химических и биохимических превращениях, возникающих как результат биохимических превращений под воздействием микроорганизмов при длительном хранении, например, афлатоксины, гетероциклические амины [12, 14,15,16].

Микронутриентами естественного происхождения также можно считать минорные продукты гидролиза макрокомпонентов — свободные аминокислоты, образующиеся в результате распада белков, свободные жирные кислоты липидного происхождения, моносахара, образующиеся из углеводов и нуклеотиды — продукты распада ДНК. Общее суммарное количество нахождения этих компонентов в нативном сырье животного происхождения обычно составляет сотые и даже тысячные доли процента [15,16]. В результате развития гидролитических процессов под воздействием внутренних ферментных систем и развивающейся микрофлоры, массовая доля естественных микронутриентов может увеличиваться при хранении, как самого сырья, так и продукции на его основе [1,12,13,14,15].

В пище содержится много белков, которые построены из связанных пептидными связями L-аминокислот. В результате гидролиза, а также естественного движения питательных веществ в живых организмах, используемых в дальнейшем для получения сырья пищевой системы, обычно в аминокислотном анализе

идентифицируется незначительное количество свободных аминокислот. Например, в мышечной ткани коров, взятой после убоя, обнаруживается до 0,005 % смеси аминокислот, состоящей, г/100 г белка: Иле 4,1; Лей 7,5; Лиз 11,5; Мет 4,2; Цис 2,2; Фен 4,3; Тир 4,1; Тре 5,3; Трп 2,6; Вал 5,1; Ала 3,3; Арг 7,1; Асп 6,4; Гис 4,2; Гли 4,6; Глу 12,3; Про 2,9; Сер 3,3 [7,15].

Аминокислоты не представляют опасности для человека. Некоторые используются в качестве аттрактантов — веществ, усиливающих вкус продукта. Например, широкое использование в последнее время в пищевых системах глутамината натрия придает продукции специфический вкус, а самое главное, привыкание к этому вкусу и противоестественное желание человека потреблять данный продукт [16]. Глутаминат натрия может провоцировать зависимость потребителя к конкретному виду продукции, что не может рассматриваться как положительный фактор.

Наличие свободных аминокислот в некоторой степени способствует изменению вкусовых характеристик продукта. Триптофан в 35 раз сладче сахарозы, аспарагиновая и глутаминовая кислоты кислые на вкус, а в нейтральных растворах в виде солей могут иметь приятный и оригинальный вкус, глицин обладает характерным вкусом освежающей сладости, которая по интенсивности близка к сахарозе. Сладкие L-аминокислоты: глицин, аланин, серин, пролин. Сладкие D-аминокислоты: валин, лейцин, треонин, метионин, триптофан, гистидин. Соединение L-аспарагиновой кислоты и метилового эфира фенилаланина под названием аспартам в 200 раз сладче сахарозы. Изолейцин, лейцин, тирозин, L-валин, L-гистидин могут придавать пищевой системе горький привкус [12,17].

Важным естественным микрокомпонентом животного сырья являются свободные жирные кислоты (ЖК). Жировая ткань или органические липиды присутствуют практически в любой пищевой системе. Жирные кислоты входят в состав жиров и масел в виде триглицеридов природных цис-форм ЖК. Под воздействием температуры, света, pH и ферментов часть ЖК высвобождается, образуя свободные ЖК. Считается, что на пищевые цели можно использовать животные жиры с кислотным числом не более 2 мг КОН/г, что примерно соответствует 1% свободных ЖК в системе [18]. Анализ фракции свободных жирных кислот, выделяемой из образцов сырья и продуктов путем, например, отгонки с паром, показывает, что соотношения свободных ЖК, как правило, являются схожими с общим ЖК составом продукта. Например, свободные ЖК свиного жира в количестве 0,1% от массы сырья, могут содержать следующие основные ЖК, % от суммы: C(4:0) и C(6:0) до 0,1; C(8:0), C(10:0), C(14:1), C(15:1), C(18:3)n3, C(20:1), C(20:3)n6, C(22:2) и C(22:6)n3 до 0,4; C(15:0) и C(20:0) до 0,3; C(12:0), C(17:1) и C(20:4) n6 до 1,5; C(14:0) и C(16:1) до 4,5; C(16:0), C(18:0) от 10 до 25; C(17:0), C(19:0) и C(22:0) до 0,7; C(18:1)n9c от 20 до

42; C(22:1)n9 до 0,8; C(18:2)n6c от 2 до 10; C(18:3)n6 до 2,1; C(20:2) до 0,2 [18,19].

В пищевых системах на основе животного сырья не должно содержаться *транс*-изомеров ЖК. Однако, использование тепловых режимов, выше 200 °C может приводить к появлению дополнительного микроингредиента — *транс*-форм ЖК. Например, нагревание, а также внесение в пищевую систему добавок маргаринов, заведомо содержащих *транс*-изомеры ЖК может приводить к появлению *транс*-формы олеиновой кислоты — элаидиновой. Содержание этой C(18:1)n9 ЖК в жирнокислотном анализе некоторых пищевых систем может определяться — до 0,6 и более процентов. В данном случае технология приводит к появлению несвойственных температурных нарушений в перегретых фритюрных жирах этот микрокомпонент может становиться макрокомпонентом, достигая величины в 30–50 % от суммы ЖК [20,21,22].

Высокомолекулярные жирные кислоты вкуса и запаха практически не имеют. Низкие C(4:0) — C(8:0) ЖК обладают достаточно резким, неприятным запахом, поэтому их влияние на вкус пищевой системы происходит на фоне коррекции запаха продукта в худшую сторону. Необходимо отметить, что часть липидов представлены в пищевых системах фосфолипидами. Гидролиз фосфолипидов, содержащихся в жирах, может приводить к образованию холина. При разложении холина образуются ядовитые вещества: нейрин, мускарин, триметиламин. Триметиламин, как основной продукт гниения, может придавать животному жиру рыбный запах. Вкус «прогорклого жира» во многом предопределяется наличием свободных низких ЖК [23,24].

Углеводы входят в состав пищевых систем, образуя с белками макрокомплексы. При гидролизе пищевой системы в ней можно установить наличие свободных углеводов (УВ). Вследствие высокой лабильности, уровень содержания микроингредиентов — УВ как правило очень низкий. Так в животном сырье (говядина, свинина) можно зафиксировать наличие в свободном состоянии УВ, мг.%: арабинозы, галактозы, глюкозы, ксилозы, маннозы, рибозы, фруктозы на уровне 0,1–20,0; лактозы и сахарозы в количестве от 0,01 до 0,1 [25,26,27,28].

УВ обладают сладким привкусом и могут положительно влиять на вкусовую гамму продукции. Среднее содержание свободных УВ в баранине выше, чем в говядине или свинине, что может придавать продукту сладковатый привкус. Важным фактором формирования вкусовых характеристик пищевых систем на основе животного сырья является возможность осуществления взаимодействия микроколичеств свободных УВ и аминокислот — реакции Майяра при повышенных температурах. Результатом этой реакции является образование продукции коричневого оттенка и при-

дания ей привкуса копченой мясной продукции [29].

Важными и полезными, с точки зрения современной диетологии, микрокомпонентами пищи являются витамины. Типичный витаминный состав мясного сырья на основе говядины или свинины может включать, мг/100 г сырья: витамин A — 0,01; B<sub>1</sub>—0,5; B<sub>2</sub>—0,3; B<sub>3</sub>—0,2; B<sub>4</sub>—80,0; B<sub>5</sub>—0,45; B<sub>6</sub>—0,3; B<sub>9</sub>—0,015; B<sub>12</sub>—0,01; C < 0,001; D — 0,1; E — 0,4; PP — 5,8; H — 0,03. Сохранение естественного уровня содержания витаминов в сырье и продуктах на его основе, представляет проблему из-за известной неустойчивости и способности к разрушению в результате температурного воздействия, активности окислителей пищевых систем, ферментативной активности, pH и других факторов. Процесс разрушения также происходит при длительном хранении [30–32]. Так в термически обработанных мясных консервах, количество указанных выше витаминов может быть на порядок меньше и включать только самые устойчивые вещества, мг/100 г продукта: витамин A — следы; B<sub>1</sub>—0,06; B<sub>2</sub>—0,05; B<sub>5</sub>—0,3; B<sub>6</sub>—0,15; D — 0,2; E — 0,1; PP — 3,0. В ряде случаев, когда специально проводится витаминизация продукции, содержание отдельных витаминов в готовых продуктах, например, витамина С, может превышать уровень их естественного содержания на порядок [33].

В пищевой продукции на основе животного и др. видов сырья вследствие биологического распада, могут образовываться вредные микрокомпоненты, называемые биогенными аминами (БА) [33,34].

Образование БА в основном связано с распадом белков. Процессы биохимической деградации белков, приводят к ухудшению качества продукции и накоплению потенциально опасных веществ. БА — это группа азотсодержащих органических соединений с алифатической (путресцин, кадаверин, спермин, спермидин), ароматической (тирамин, фенилэтиламин) или гетероциклической (гистамин, триптамин) структурой [35,36].

БА образуются при порче и разложении продуктов питания, однако повышенные концентрации могут наблюдаться еще до того, как пища станет испорченной или органолептически непригодной. По данным ВОЗ гистамин может вызывать сильные аллергические реакции, а некоторые биогенные амины, например, кадаверин и путресцин, могут усиливать его аллергическое действие [36].

Наличие микрокомпонентов — БА характерно для разных видов продуктов. В свежем мясе содержание БА обычно небольшое, принимая во внимание, что концентрации ди- и полиаминов изменяются в широком диапазоне. Технологическая обработка мясных продуктов также влияет на содержание аминов. Показано, что количество гистамина в вареных колбасах, до 9 мг/кг, обычно меньше, чем в сухих колбасах (до 380 мг/кг). Большие концентрации БА были обнаружены во всех видах рыбы. Сообщалось об обнару-

жении до 5 г/кг гистамина и до 3 г/кг тирамина. В других исследованиях средняя концентрация гистамина в макрели составляла от 0,55 г/кг до 1,788 г/кг. Кроме рыбы, биогенные амины обнаружены в сырах, подвергшихся длительному хранению. Концентрация гистамина в сырах может достигать 2,6 г/кг и триптиамина 2,17 г/кг [37].

В растениях было обнаружено до 100 мг/кг серотонина и тирамина. В бобах какао содержится большое количество фенилэтамина, тирамина, триптиамина и серотонина. Из-за этого амины могут попадать в шоколад. В бананах тирамин и серотонин тоже содержатся в ощущимых концентрациях. В квашеной капусте содержание гистамина может достигать 200 мг/кг. В пиве уровни биогенных аминов обычно ниже 20 мг/л. Имеются сообщения об обнаружении более высоких концентраций тирамина до 74 мг/л и кадаверина до 34 мг/л [38,39].

Поскольку из БА только гистамин содержится практически во всех видах продукции, особенно в рыбной, Регламентом Комиссии ЕС № 2074/2005 установлена ПДУ гистамина для разной рыбной продукции на уровне от 100 до 400 мг/кг. В Российской Федерации ПДУ гистамина определен в количестве меньше чем 100 мг/кг. Все процессы получения и хранения пищевой продукции, содержащей белки, должны реализовываться в условиях минимизации окисления белков и появления БА [38,39,40].

За последние десятилетия научно-технический прогресс в области сельского хозяйства, а также развитие технологических процессов пищевой индустрии привели к достаточно существенным изменениям в микрокомпонентах пищевых систем и появлению в продуктах не свойственных им химических веществ [2,3,4,5,6,7,8,9,10]. Основным компонентом любой пищевой системы является вода. Большинство микронутриентов, в том числе небезопасных, поступает в пищевые системы именно с водой. По международным требованиям ПДК таких веществ в питьевой воде, используемой на предприятиях в технологиях производства продуктов питания, не должна превышать, мг/л: акриламида — 0,0005; алахлора — 0,02; алюминия — 0,2; альдикарба — 0,01; альдрина — 0,00003; аммония — 0,2; атразина — 0,002; бария — 0,7; бенз(а)пирена — 0,0006; бензатона — 0,03; бензола — 0,0007; бора — 0,3; броматов — 0,025; бромдихлорметана — 0,06; бромоформа — 0,1; винилхлорида — 0,01; гексахлорбензола — 0,001; гексахлорбутидана — 0,005; гептахлора — 0,00003; ДДТ — 0,002; дибромацетонитрила — 0,1; 1,2-дибром-3-хлорпропана — 0,001; дибромхлорметана — 0,1; дихлорацетонитрила — 0,09; 1,2-дихлорбензола — 0,001; 1,4-дихлорбензола — 0,0003; дихлорметана — 0,02; дихлорпропа — 0,1; 1,2-дихлорпропана — 0,02; 1,3-дихлорпропена — 0,02; дихлоруксусной кислоты — 0,05; 2,4-дихлорфенок-

симасляной кислоты — 0,09; 2,4-дихлорфеноксиуксусной кислоты — 0,009; 2,4-дихлорфенола — 0,0003; 1,2-дихлорэтана — 0,03; 1,2-дихлорэтилена — 0,05; ди(2-этилгексил)адипината — 0,08; ди(2-этилгексил)фталата — 0,008; железа — 0,3; кадмия — 0,003; ксиола — 0,02; линдана — 0,002; марганца — 0,1; меди — 1; 2-метил-4-хлор-феноксиуксусной кислоты — 0,002; метоксихлора — 0,02; метолахлора — 0,01; молибдена — 0,07; молината — 0,006;monoхлорамина — 3; monoхлорбензола — 0,01; мышьяка — 0,01; натрия — 200; никеля — 0,02; нитратов — 50; нитритов — 3; нитрилтриуксусной кислоты — 0,2; пендиметалина — 0,02; пентахлорфенола — 0,009; перметрина — 0,02; пиридата — 0,1; пропанила — 0,02; ртути — 0,001; свинца — 0,01; селена — 0,01; сероводорода — 0,05; сильвекса — 0,009; симазина — 0,002; стирола — 0,004; сульфатов — 250; сурьмы — 0,005; 2,4,5-Т — 0,009; текопропа — 0,01; тетрахлорэтилена — 0,04; толуола — 0,02; тригалометана — 0,001; трифлурилина — 0,02; трихлорацетальдегида — 0,01; трихлорбензола — 0,005; трихлортрибутиловогооксида — 0,002; трихлоруксусной кислоты — 0,1; 2,4,6-трихлорфенола — 0,002; 1,1,1-трихлорэтана — 2; трихлорэтилена — 0,07; формальдегида — 0,9; фтора — 1,5; хлора — 0,6; хлордана — 0,0002; хлоридов — 250; хлоритов — 0,2; хлортолурана — 0,03; 2-хлорфенола — 0,0001; хлорциана — 0,07; хрома — 0,05; цианидов — 0,07; цинка — 3; четыреххлористого углерода — 0,002; эпихлоргидрина — 0,0004; ЭДТА — 0,2; этилбензола — 0,002 [41,42,43,44]. Перечисленные компоненты при попадании в пищевые продукты становятся привнесенными микрокомпонентами, за которыми должен устанавливаться жесткий контроль [45].

К привнесенным микронутриентам пищи, прежде всего, относятся пестициды. В списке веществ, разрешенных к применению в сельскохозяйственном производстве на территории Российской Федерации, находится более 2000 органических веществ, применяемых как пестициды [46]. Однако, необходимый контроль за их остаточным содержанием в готовой продукции должным образом не установлен.

Ранее в Российской Федерации действовали нормативные документы, предписывающие аналитический контроль за остаточным содержанием 70 пестицидов, наличие большинства из которых в пищевой продукции не допускалось, мг/кг: абат 1,0; актеллик 0,01; алдрин не доп.; амидофос 0,3; атразин 0,02; афуган не доп.; аэроль-2 не доп.; базудин 0,7; базудин не доп.; байтекс 0,2; гексахлоран 0,1; гексахлоран 0,01; гептахлор не доп.; гиподермин-хлорофос не доп.; глак Ц 0,1; ГХЦГ гамма-изомер 0,1; 2,4-Д-аминная соль не доп.; 2,4-Д-бутиловый эфир не доп.; 2,4-Д-дихлорофеноксиуксусная кислота не доп.; 2,4-Д-дихлорфенол не доп.; 2,4-Д-кротиловый эфир не доп.; 2,4-Д-малолетучие эфиры не доп.; 2,4-ДМ не доп.; 2,4-Д-октиловый эфир не доп.; 2,4-Д-хлороктиловый эфир не доп.; ДДВФ не

доп.; ДДТ и его метаболиты 0,1; валексон дерматозоль 0,02; дибром 0,3; диурон не доп.; ДНОК не доп.; дурс-бан 0,1; карбофос не доп.; камбилин не доп.; корал 0,2; кремнефтористый натрий 0,4; креолин 0,1; линурон не доп.; лонтрел 0,3; метилмеркаптофос не доп.; мета-фос не доп.; неопинамин не доп.; дихлоральмочевина не доп.; нитрафен не доп.; нитрофен не доп.; оксамат не доп.; педикс не доп.; пентахлорфенолят натрия не доп.; полихлоркампфен не доп.; полихлорпинен не доп.; пропоксур не доп.; реглон 0,01; ртутьсодержащие пестициды не доп.; севин не доп.; сероцин не доп.; тиофос не доп.; тирам не доп.; трихлорметафос 0,3; трихлорметафос-3 не доп.; фозалон не доп.; хлорофос не доп.; полихом не доп.; циодрин 0,05; цирам не доп.; этафос 0,01; фенагон не доп. [47].

В последние годы в РФ действуют нормативные документы, предписывающие контроль практически только за хлороганическими пестицидами (ХОП) по двум показателям: суммарное содержание  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ -изомеров гексахлорциклогексана ( $\Sigma$ ГХЦГ), а также суммарное содержание ДДТ и его метаболитов. Для животной продукции ПДК по этим показателям установлена на уровне 0,1 мг/кг. Для некоторых видов пищевой продукции на основе животного сырья значения ПДК для  $\Sigma$ ГХЦГ и  $\Sigma$ ДДТ может составлять 1,0–1,25 мг/кг [48,49].

Проведенные нами испытания реальных уровней содержания ХОП:  $\alpha$ -ГХЦГ,  $\beta$ -ГХЦГ,  $\gamma$ -ГХЦГ,  $\delta$ -ГХЦГ, алдрина, гептахлора, I-эндосульфана, II-эндосульфана, эндосульфана, ДДЕ, ДДД, ДДТ и эндрина в продукции на основе животного сырья в отечественных продуктах показывают, что количество этих ХОП в сертифицируемой продукции сегодня составляет от 0,001 до 0,03 мг/кг при разрешенных ПДК в 0,1 мг/кг. Учитывая, что ГХЦГ и ДДТ повсеместно запрещены к применению, этот показатель говорит о реальным уровне данных экотоксикантов в пище [50].

Более высокие значения содержания ХОП в мясной продукции, превышающие ПДК в два и более раз, могут наблюдаться в образцах продуктов, полученных из экологически неблагоприятных районов [51].

«Зеленая революция» в сельскохозяйственном производстве за последние десятилетия привела к введению в практику различных гормональных и лекарственных препаратов, которые используются для интенсификации производства. Применительно к получению мясного сырья эта тенденция прослеживается примерно следующим образом. Например, при выращивании птицы цыпленку вводят до 5 мг/кг массы особи гормона — диэтилстильбэстрола (ДЭС). Скорость накопления мышечной массы может увеличиваться в два три раза. Мясо птицы, полученное таким образом, может содержать остатки гормона до 0,005 мг/кг и более. Наличие такого количества гормона в «ножках Буша» опасно для потребителя — у человека нарушается гормональная регуляция собствен-

ного организма. Через несколько лет использования, ДЭС, также как и эстрадиол, законодательно были запрещены к применению [52]. Однако производители начинают сегодня применять новые, пока еще не запрещенные регуляторы, например рактопамин [53]. Сегодня практически вся продукция, поступающая из США, Канады, частично Бразилии выработана с использованием гормональных технологий.

В Регламенте ТС ТР [49] перечислены основные вещества, которых не должно быть в мясной продукции в зависимости от вида сырья, мг/кг: канамицин 0,1–2,5; неомицин 0,5–5; паромомицин 0,5–1,5; спектиномицин 0,3–5; стрептомицин/дигидрострептомицин 0,5–1; цефтиофур 1–6; цефалексин 0,2–1; цефапирин 0,05–0,1; цефкином 0,05–0,2; сульфаниламиды 0,1; баквилоприм 0,01–0,15; триметоприм 0,05–0,1; клавулановая кислота 0,1–0,4; линкомицин/клиндамицин 0,1–0,4; пирлимицин 0,1–0,4; тиамфеникол 0,05; флорфеникол 0,1–3; флумекин 0,2–1,5; ципрофлоксацин/энрофлоксацин/пефлоксацин/офлоксацин/норфлоксацин 0,1–0,3; данофлоксацин 0,05–0,4; дифлоксацин 0,1–1,4; марбофлоксацин 0,05–0,15; оксолиновая кислота 0,05–0,1; эритромицин 0,2; спирамицин 0,3–1; тилмикозин 0,05–1; тилозин 0,1; тилвалозин 0,05; туллатромицин 0,1–3; тиамулин 0,5; вальнемулин 0,05–0,1; рифампицин 0,1; колистин 0,15; бацитрацин 0,02–0,15; авиламицин 0,05–0,2; монензин 0,002–0,03; ласалоцид 0,005–0,05; нитрофураны < 0,1; метронидазол < 0,1; стрептотицины 0,7; тетрациклины 0,01–0,6; пенициллины 0,05–0,3; диклазурил 0,005–3; имидокарб 0,05–1,5; толтразурил 0,1–0,5; никарбазин 0,025–0,1; робенидин 0,005–0,05; семдурамицин 0,002; наразин 0,005; мадуромицин 0,002; салиномицин 0,002; галофугинон 0,003; декоквинат 0,02; амитраз (2,4-диметоксиамфетамин) 0,1–0,4; левомицетин не допускается 0,0003.

В этот список включены практически все противомикробные и антибиотические препараты, остаточные микроколичества которых в пищевом продукте непосредственно угрожают человеку, существенно нарушая возможные схемы лечения антибиотиками человека, для которого часть данных потребленных ранее с пищей препаратов будет не эффективной.

В реальной практической сертификации сегодня можно отметить систематическое злоупотребление обработкой левомицетином рыбных продуктов китайского производства, а также значительное количество птицы, содержащей высокие концентрации нитрофуранов.

Другим классом привнесенных микрокомпонентов являются полиароматические углеводороды (ПАУ). Они выделяющихся из термически нагретой древесины и попадают в пищевые системы, получаемые по технологиям копчения. ПАУ представляют собой достаточно высокий уровень опасности и обладают канцерогенными свойствами [54].

Показано, что основные ПАУ из тлеющей древесины, попадают в жировую ткань мясного продукта при копчении, в частности, при температуре 55 °C во времени с возрастающей концентрацией, мкг/кг: циклопента[с, d]пирен 0,41–3,43; бенз[а]антрацен 0,18–1,25; хризен 0,14–1,19; 5-метилхризен 0,03–0,08; бенз[j]флуорантен 0,01–0,07; бенз[b]флуорантен 0,03–0,92; бенз[k]флуорантен 0,03–0,34; бенз[а]пирен 0,11–0,81; дibenzo[а, l]пирен 0,02–0,03; дibenз[а, h]антрацен 0,1–0,18; бенз[g, h, i]перилен 0,37–0,76; инден[1,2,3-cd]пирен 0,07–0,40; дibenз[а, e]пирен 0,03–0,64; дibenз[а, i]пирен 0,01–0,02; дibenз[а, h]пирен 0,01–0,04 [55].

Попадание таких веществ в пищевую продукцию необходимо минимизировать, поэтому на законодательном уровне предусматривается контроль за их остаточным содержанием. В настоящее время в отечественной нормативной документации установлен предельно допустимый уровень содержания одного из ПАУ — бенз[а]пирена на уровне 1 мкг/кг. В Европейских стандартах действуют предельные нормы содержания четырех ПАУ: бенз[а]пирена, хризена, бенз[а]антрацена и бензо[b]флуорантена, суммарное содержание которых не должно превышать 2,0 мкг/кг.

Жировые компоненты пищевой продукции, в силу высокой растворяющей способности в отношении ароматических соединений, являются хорошими аккумулянтами ПАУ. Максимальная скорость поглощения ПАУ липидами жировой фазы на начальных стадиях процесса копчения может изменяться с  $0,14 \cdot 10^{-5}$

до  $3,47 \cdot 10^{-5}$  мкгл<sup>-1</sup>·с<sup>-1</sup> при росте температуры с 40 до 55 °C [55].

Проводимые нами в последнее время исследования показывают, что микрокомпонентный состав во многом предопределяет вкусо-ароматические характеристики пищевых систем. В состав микрофракций входит, по данным хроматомас-спектроскопии, несколько сот различных органических веществ, перечень которых приводится в литературе [56,57,58]. Часть этих веществ синергетически формируют вкус и аромат продукции, а часть, при определенных концентрациях может быть небезопасными для здоровья человека.

## Выводы

Таким образом, рассмотрение вопросов микро компонентного состояния пищевых систем показывает, что современные продукты питания могут включать разнообразное количество органических соединений, наличие некоторых из них не может рассматриваться как положительный фактор. Высокий уровень отдельных микрокомпонентов, по-видимому, и обуславливает тенденцию проявления различных заболеваний, многие из которых ранее не были свойственными человеку. Формирование научных основ получения продуктов с учетом возможных неблагоприятных тенденций использования некачественных ингредиентов является важной задачей изготовления и использования современных пищевых систем.

The composition of modern food systems includes both macro- and microcomponents. The complexity of the formation of modern systems based on natural raw materials resides in the need to obtain a food product with satisfactory taste-aromatic and safety characteristics, which are largely related to the component composition of trace impurities [1].

The constituent microcomponents of such systems and products based on them are a multitude of chemical substances, the pool of which largely determines the main consumer property of food products — their taste [1]. However, some of these substances, which are often found in the food system matrix in trace amounts, can present a certain hazard to humans and have the character of eco-toxicants [1,2,3,4].

Traditional food production resides in the use of natural food raw materials that consist of the main nutritional macrocomponents — proteins, fats and carbohydrates, the content of which in the product can range from several to 90–95 % [2, 3].

Micronutrients of food systems include all substances that are part of the product as a result of the developed formulation, as well as the substances formed in the product matrix as a result of technological operations, or as a result of the development of biochemical transformations

under the influence of the residual enzymatic activity during long-term storage [5,6].

The level of such microcomponents is usually from 0.001% to 1–2 %. Moreover, the lower quantitative level of detection of a particular substance is largely determined by the minimum sensitivity of the applied analytical method of identification. For this reason, previously, many food substances were practically not identified [1,7]. The development of the modern chromatographic analytical methods, the methods of enzyme-linked immunosorbent assay, as well as chromatography mass spectrometry shows that in the real food systems, the level of the presence of certain ingredients can be a millionth of one percent (ppm or even ppb or ppt); however, an impact of these substances, nevertheless, affects product flavor [7,8,9,10,11]. Part of these substances can be positioned as unsafe or even harmful impurities [12,13].

Micronutrients of food systems consist of different groups of chemical substances that are in the raw materials initially as natural components. They are also found in raw materials and products as incorporated substances during the chemical processing of products in agricultural production, such as pesticides, preservatives, stabilizers, hormonal regulators. Microcomponents also appear as a result of technological operations and the corresponding

chemical and biochemical transformations, that arise as a result of biochemical transformations under the action of microorganisms during long-term storage, for example, aflatoxins, heterocyclic amines [12, 14,15,16].

Micronutrients of natural origin can also be regarded as minor products of hydrolysis of macrocomponents — free amino acids formed as a result of protein breakdown, free fatty acids of lipid origin, monosaccharides formed from carbohydrates and nucleotides — products of DNA decay. The total amount of these components in the native raw material of animal origin usually amounts to hundredths and even thousandths of a percent [15,16]. As a result of the development of hydrolytic processes under the influence of intrinsic enzyme systems and developing microflora, the mass fraction of natural micronutrients may increase during storage of both raw materials and products based on it [1,12,13,14,15].

Foods contain many proteins, which are built from L-amino acids linked by peptide bonds. As a result of hydrolysis and natural transfer of nutrients in living organisms that are subsequently used in production of raw materials for food systems, a small amount of free amino acids is usually identified in amino acid analysis. For example, in the bovine muscle tissue taken after slaughter, up to 0.005 % of the amino acid mixture is found, which consists of (g/100 g protein): isoleucine 4.1; leucine 7.5; lysine 11.5; cysteine 2.2; phenylalanine 4.3; tyrosine 4.1; threonine 5.3; tryptophan 2.6; valine 5.1; alanine 3.3; arginine 7.1; aspartic acid 6.4; histidine 4.2; glycine 4.6; glutamic acid 12.3; proline 2.9; serine 3.3 [7,15].

Amino acids do not pose a hazard to humans. Some are used as attractants — substances that enhance a taste of a product. For example, the current widespread use of monosodium glutamate in food systems gives products a specific taste, and most importantly, causes addiction to this taste and unnatural desire in an individual to consume this product [16]. Monosodium glutamate can provoke consumer's dependency on a particular product type, which cannot be considered a positive factor.

The presence of free amino acids to some extent contributes to changes in the taste characteristics of a product. Tryptophan is 35 times sweeter than sucrose, aspartic and glutamic acids taste sour, and can have a pleasant and original taste in the neutral solutions in a form of salts, glycine has a characteristic taste of refreshing sweetness, which is close in intensity to sucrose. The sweet L-amino acids are glycine, alanine, serine, proline. The sweet D-amino acids are valine, leucine, threonine, methionine, tryptophan, histidine. Aspartame, a compound of L-aspartic acid and methyl ester of phenylalanine, is 200 times as sweet as sucrose. Isoleucine, leucine, tyrosine, L-valine and L-histidine can give a food system a bitter taste [12,17].

An important natural microcomponent of animal raw materials are free fatty acids (FA). The fatty tissue or organic lipids are present in virtually any food system. Fatty acids are part of fat and oils in the form of triglycerides of natural

cis-forms of FA. Under the influence of temperature, light, pH and enzymes, part of the FA is released, forming free FA. It is believed that for food purposes, animal fats with an acid number of not more than 2 mg KOH / g can be used, which corresponds approximately to 1% of free FA in the system [18]. Analysis of the fraction of free fatty acids released from samples of raw materials and products by, for example, stripping with steam, shows that the ratios of free FA are generally similar to the total FA composition of a product.

For example, free FA of pork fat in an amount of 0.1% of raw material weight, can contain the following main fatty acids (% of the sum): C (4:0) and C (6:0) to 0.1; C (8:0), C (10:0), C (14:1), C (15:1), C (18:3) n3, C (20:1), C (20:3) n6, C (22:2) and C (22:6)n3 to 0.4; C (15:0) and C (20:0) to 0.3; C (12:0), C (17:1) and C (20:4)n6 to 1.5; C (14:0) and C (16:1) to 4.5; C (16:0), C (18:0) from 10 to 25; C (17:0), C (19:0) and C (22:0) to 0.7; C (18:1)n9c from 20 to 42; C (22:1)n9 to 0.8; C (18:2)n6c from 2 to 10; C (18:3)n6 to 2.1; C (20:2) to 0.2 [18,19].

Food systems based on animal raw materials should not contain trans-isomers of FA. However, the use of thermal regimes above 200 °C can lead to the appearance of an additional microingredient — trans-forms of FA. For example, heating, as well as adding to a food system additives margarines, which knowingly contain trans-isomers of FA can lead to the appearance of a trans-form of oleic acid — elaidic acid. The content of C (18:1)n9t FA in the fatty acid analysis of some food systems can be up to 0.6 and more%. In this case, technology leads to the appearance of unusual microcomponents. In the case of the substantial temperature abuse in superheated fats for deep drying, this microcomponent can become a macrocomponent, reaching a value of 30–50 % of the sum of the FA [20,21,22].

High molecular weight fatty acids practically do not have taste and odor. Low molecular weight FA (C (4:0) — C (8:0)) have a rather sharp, unpleasant odor, so their influence on a taste of a food system occurs against the background of negative correction of a product odor. It should be noted that some lipids are present in food systems as phospholipids. Hydrolysis of phospholipids contained in fats can lead to the formation of choline. During the decomposition of choline, poisonous substances are formed: neurin, muscarine, trimethylamine. Trimethylamine, as the main product of putrefaction, can give the animal fat a fishy odor. The taste of «rancid fat» is largely predetermined by the presence of free low molecular weight FA [23,24].

Carbohydrates are part of food systems that form macrocomplexes with proteins. The presence of free carbohydrates (CH) can be established in a food system upon its hydrolysis. Due to high lability, the content of the microingredients (CH) is usually very low. For example, in animal raw materials (beef, pork) it is possible to record the presence in the free state of CH, mg. %: arabinose, galactose, glucose, xylose, mannose, ribose, fructose at the level of 0.1–20.0; lactose and sucrose in the range from 0.01 to 0.1 [25,26,27,28].

The carbohydrates have a sweet aftertaste and can positively influence a taste range of products. The average content of free CH in lamb is higher than in beef or pork, which may give a product a sweetish flavor. An important factor in the formation of taste characteristics of food systems based on animal raw materials is the possibility of interaction of free CH and amino acid micro-quantities — the Maillard reaction at elevated temperatures. The result of this reaction is the formation of brown products and appearance of a smoked meat taste [29].

Vitamins are important and useful microcomponents of food from the viewpoint of modern dietology. A typical vitamin composition of meat raw materials based on beef or pork may include, mg/100 g of raw materials: vitamin A — 0.01; B<sub>1</sub> — 0.5; B<sub>2</sub> — 0.3; B<sub>3</sub> — 0.2; B<sub>4</sub> — 80.0; B<sub>5</sub> — 0.45; B<sub>6</sub> — 0.3; B<sub>9</sub> — 0.015; B<sub>12</sub> — 0.01; C < 0.001; D — 0.1; E — 0.4; PP — 5.8; H — 0.03. Preservation of the natural level of vitamins in raw materials and products based on it, is a problem due to the known lability and the ability to break down as a result of temperature influence, activity of food system oxidants, enzymatic activity, pH and other factors. The process of destruction also occurs with prolonged storage [30,31,32]. For example, in thermally processed canned meat, amounts of the above mentioned vitamins can be smaller by an order of magnitude and include only the most stable substances, mg/100 g of product: vitamin A — traces; B<sub>1</sub> — 0.06; B<sub>2</sub> — 0.05; B<sub>5</sub> — 0.3; B<sub>6</sub> — 0.15; D — 0.2; E — 0.1; PP — 3.0. In some cases, when the vitaminization of products is intentionally carried out, the content of individual vitamins in finished products, for example, vitamin C, may exceed the level of their natural content by an order of magnitude [33].

In food products based on animal and other raw materials, harmful microcomponents, called biogenic amines (BAs) [33,34] can be formed due to bio-logical decay.

The formation of BAs is mainly associated with the breakdown of proteins. The processes of biochemical degradation of proteins lead to a deterioration in the quality of products and the accumulation of potentially hazardous substances. BAs is a group of nitrogen-containing organic compounds with aliphatic (putrescine, cadaverine, spermine, spermidine), aromatic (tyramine, phenylethylamine) or heterocyclic (histamine, tryptamine) structures [35,36].

BAs are formed when foodstuffs are degraded and decomposed, but higher concentrations may be observed even before food becomes spoiled or organoleptically unacceptable. According to WHO, histamine can cause severe allergic reactions, and some biogenic amines, for example, cadaverine and putrescine, can enhance its allergic effect [36].

The presence of microcomponents, BAs, is characteristic for different types of products. In fresh meat, the BA content is usually small, taking into account that the concentrations of di- and polyamines vary over a wide range. The technological processing of meat products also affects

the content of amines. It is shown that the amount of histamine in cooked sausages (up to 9 mg/kg) is usually less than in dry sausages (up to 380 mg/kg). Large concentrations of BAs were found in all types of fish. It was reported that up to 5 g/kg of histamine and up to 3 g/kg of tyramine were detected. In other studies, the average concentration of histamine in mackerel ranged from 0.55 g/kg to 1.788 g/kg. In addition to fish, biogenic amines are found in cheeses that have undergone long-term storage. The concentration of histamine in cheeses can reach 2.6 g/kg and tryptamine 2.17 g/kg [37].

In plants, up to 100 mg/kg of serotonin and tyramine were detected. In cocoa beans, a large amount of phenylethylamine, tyramine, tryptamine and serotonin are contained. Because of this, amines can get into the chocolate. In bananas, tyramine and serotonin are also present in appreciable concentrations. In sauerkraut, the histamine content can reach 200 mg/kg. In beer, the levels of biogenic amines are usually below 20 mg/l. There are reports about higher concentrations of tyramine (up to 74 mg/l) and cadaverine (up to 34 mg/l) [38,39].

Due to the fact that among BAs only histamine is contained in practically all types of products, especially in fish products, the EU Commission Regulation No. 2074/2005 sets the histamine limits for different fish products at a level of 100 to 400 mg/kg. In the Russian Federation, the histamine limit is defined in an amount of <100 mg/kg. All processes of production and storage of protein containing food products should be realized in conditions of minimizing the protein oxidation and the appearance of BAs [38,39,40].

Over the past decades, scientific and technological progress in the field of agriculture, as well as the development of technological processes in the food industry, have led to quite significant changes in the micro components of food systems and the appearance of unusual chemicals in products [2, 3,4,5,6,7,8,9,10]. The main component of any food system is water. Most micronutrients, including unsafe, enter the food systems with water. According to international requirements, the MAC of such substances in drinking water used by enterprises in food production technologies should not exceed, mg / l: acrylamide — 0.0005; alachlor — 0.02; aluminum — 0.2; aldicarb — 0.01; ald-rin — 0.00003; ammonium — 0.2; atrazine — 0.002; barium — 0.7; benzo(a)pyrene — 0.0006; benzaton — 0.03; benzene — 0.0007; boron — 0.3; bromates — 0.025; bromodichloromethane — 0.06; bromoform — 0.1; vinyl chloride — 0.01; hexachlorobenzene — 0.001; hexachlorobutadiene — 0.005; heptachlor — 0.00003; DDT — 0.002; dibromoacetonitrile — 0.1; 1,2-dibromo-3-chloropropane — 0.001; dibromochloromethane — 0.1; dichloroacetonitrile — 0.09; 1,2-dichlorobenzene — 0.001; 1,4-dichlorobenzene — 0.0003; dichloromethane — 0.02; dichloroprop — 0.1; 1,2-dichloropropane — 0.02; 1,3-dichloropropene — 0.02; dichloroacetic acid — 0.05; 2,4-dichlorophenoxy butyric acid — 0.09; 2,4-dichlorophenoxy acetic acid — 0.009; 2,4-dichlorophenol — 0.0003;

1,2-dichloroethane — 0.03; 1,2-dichloroethylene — 0.05; di(2-ethylhexyl)adipate — 0.08; di(2-ethylhexyl) phthalate — 0.008; iron — 0.3; cadmium — 0.003; xylene — 0.02; lindane — 0.002; manganese — 0.1; copper — 1; 2-methyl-4-chlorophenoxyacetic acid — 0.002; methoxychlor — 0.02; metolachlor — 0.01; molybdenum — 0.07; molinate — 0.006; monochloramine — 3; monochlorobenzene — 0.01; arsenic — 0.01; sodium — 200; nickel — 0.02; nitrates — 50; nitrites — 3; nitrilotriacetic acid — 0.2; pendimethalin — 0.02; pentachlorophenol — 0.009; permethrin — 0.02; pyridate — 0.1; propanil — 0.02; mercury — 0.001; lead — 0.01; selenium — 0.01; hydrogen sulphide — 0.05; silvex — 0.009; simazine — 0.002; styrene — 0.004; sulfates — 250; antimony — 0.005; 2,4,5-T — 0.009; tekoprop — 0.01; tetrachloroethylene — 0.04; toluene — 0.02; trihalomethane — 0.001; trifluralin — 0.02; trichloroacetaldehyde — 0.01; trichlorobenzene — 0.005; trichlorotributyltin oxide — 0.002; trichloroacetic acid — 0.1; 2,4,6-trichlorophenol — 0.002; trichlorethylene — 0.07; formaldehyde — 0.9; fluorine — 1.5; chlorine — 0.6; chlordane — 0.0002; chlorides — 250; chlorites — 0.2; chlorotoluran — 0.03; 2-chlorophenol — 0.0001; chlorocyanin — 0.07; chromium — 0.05; cyanides — 0.07; zinc — 3; carbon tetrachloride — 0.002; epichlorohydrin — 0.0004; EDTA — 0.2; ethylbenzene — 0.002 [41,42,43,44]. The listed components, when ingested, become introduced microcomponents, which should be strictly controlled [45].

The introduced food micronutrients, first of all, are pesticides. More than 2000 organic substances used as pesticides are included in the list of substances allowed for the use in agricultural production on the territory of the Russian Federation, [46]. However, the necessary control over their residual content in finished products is not properly established.

Previously, in the Russian Federation, there were normative documents prescribing analytical control over the residual content of 70 pesticides, most of which were not allowed in food products (mg / kg): abate 1,0; actellic 0.01; aldrin is not allowed; amidophos 0.3; atrazine 0.02; afugan is not allowed; aerol 2 is not allowed; basudin 0.7; basudin is not allowed; baytex 0.2; hexachlorane 0.1; hexachlorane 0.01; heptachlor is not allowed; hypodermine-chlorophos is not allowed; HCH gamma isomer 0.1; 2,4-D-amine salt is not allowed; 2,4-D-butyl ester is not allowed; 2,4-D-dichlorophenoxyacetic acid is not allowed; 2,4-D-dichlorophenol is not allowed; 2,4-D-crotyl ester is not allowed; 2,4-D-low volatile esters are not allowed; 2,4-DM is not allowed; 2,4-D-octyl ester is not allowed; 2,4-D-chlorocetyl ester is not allowed; DDVP is not allowed; DDT and its metabolites 0.1; valexone dermatosol 0.02; dibrom 0.3; diuron is not allowed; DNOC is not allowed; dursban 0.1; carbophos is not allowed; kambilen is not allowed; coral 0.2; sodium fluorosilicate 0.4; creolin 0.1; linuron is not allowed; lontrel 0.3; methylmercaptophos is not allowed; metaphos is not allowed; neopinamine is not allowed; dichloro-urea is not allowed; nitrafen is not allowed; nitrofen is not allowed; oxamate is not allowed; pedix is not allowed;

sodium pentachlorophenolate is not allowed; polychlorocamphene is not allowed; polychloropinene is not allowed; propoxur is not allowed; reglone 0.01; mercury-containing pesticides are not allowed; sevin is not allowed; serocin is not allowed; thiophos is not allowed; tiram is not allowed; trichloromethaphos 0.3; trichlorometaphos-3 is not allowed; phosalone is not allowed; chlorophos is not allowed; polychome is not allowed; ciordinum 0.05; tsiram is not allowed; etaphos 0.01; fenagon is not allowed [47].

In recent years, the regulatory documents have been in effect in the Russian Federation that prescribe control over organochlorine pesticides (OCPs) only by two parameters: the total content of  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ -isomers of hexachlorocyclohexane ( $\Sigma$ HCH), and the total content of DDT and its metabolites. For animal products, the maximum allowable concentration (MAC) for these parameters is set at a level of 0.1 mg/kg. For some types of food products based on fat raw materials, the MAC values for  $\Sigma$ HCH and  $\Sigma$ DDT can be 1.0–1.25 mg/kg [48,49].

Our studies on the real levels of OCP content ( $\alpha$ -HCH,  $\beta$ -HCH,  $\gamma$ -HCH,  $\delta$ -HCH, aldrin, heptachlor, endosulfan I, endosulfan II, endosulfan, DDE, DDD, DDT and endrin) in domestic products based on animal raw materials show that the amount of these OCPs in the certified products today is from 0.001 to 0.03 mg/kg with the MAC values of 0.1 mg/kg. Taken into consideration that HCH and DDT are ubiquitously banned, this indicator shows a real level of these ecotoxins in food [50].

Higher values of the content of OCPs in meat products that exceed the MAC by two or more times, can be observed in samples of products derived from ecologically unfavorable areas [51].

The «green revolution» in agricultural production over the past decades has led to the introduction into practice of various hormonal and medicinal products that are used to intensify production. With regard to the production of meat raw materials, this trend can be traced roughly as follows. For example, in poultry production, a chicken is administered the hormone, diethylstilbestrol (DES), at a level of up to 5 mg/kg body weight. The rate of muscle mass accumulation can increase two to three times. Poultry meat obtained in this way can contain hormone residues up to 0.005 mg/kg or more. The presence of this quantity of the hormone in the chicken legs is hazardous for a consumer as the hormonal regulation in the human body is disturbed. After several years of the use, DES, as well as estradiol, were legally banned for use [52]. Nowadays, however, manufacturers are beginning to apply new, not yet prohibited regulators, for example, ractopamine [53]. Today, almost all products coming from the United States, Canada, partially from Brazil, were produced using hormone technology.

The Regulation TR CU lists the main substances that should not be in meat products, depending on the type of raw materials, mg/kg: kanamycin 0.1–2.5; neomycin 0.5–5; paromomycin 0.5–1.5; spectinomycin 0.3–5; streptomycin / dihydrostreptomycin 0.5–1; ceftiofur 1–6; cephalaxin 0.2–1;

cefapyrin 0.05–0.1; cefquinome 0.05–0.2; sulfonamides 0.1; baquiloprim 0.01–0.15; trimethoprim 0.05–0.1; clavulanic acid 0.1–0.4; lincomycin / clindamycin 0.1–0.4; pirlimycin 0.1–0.4; thiamphenicol 0.05; florfenicol 0.1–3; flumekin 0.2–1.5; ciprofloxacin / enrofloxacin / pefloxacin (ofloxacin / norfloxacin 0.1–0.3; danofloxacin 0.05–0.4; difloxacin 0.1–1.4; marbofloxacin 0.05–0.15; oxolinic acid 0.05–0.1; erythromycin 0.2; spiramycin 0.3–1; tilmicosin 0.05–1; tylosin 0.1; tylvalosin 0.05; tulatromycin 0.1–3; thiamulin 0.5; valnemulin 0.05–0.1; rifampicin 0.1; colistin 0.15; bacitracin 0.02–0.15; avilamycin 0.05–0.2; monensin 0.002–0.03; lasalocid 0.005–0.05; nitrofurans <0.1; metronidazole <0.1; streptotricin 0.7; tetracyclines 0.01–0.6; penicillins 0.05–0.3; diclazuril 0.005–3; imidocarb 0.05–1.5; toltrazuril 0.1–0.5; nicarbazin 0.025–0.1; robenidine 0.005–0.05; semduramicin 0.002; narasin 0.005; maduromycin 0.002; salinomycin 0.002; halofuginone 0.003; decoquinate 0.02; amitraz (2,4-dimethoxyamphetamine) 0.1–0.4; levomycetin is not allowed 0.0003.

This list includes almost all antimicrobial and antibiotic preparations, which residual micro-quantities in food products are a direct hazard to humans, substantially impairing possible antibiotic treatment schemes and resulting in an ineffectiveness of the part of preparations that patients previously consumed with food.

It can be noted from the real practice of current certification that there is the systematic abuse in terms of levomycetin treatment of Chinese fish products, as well as significant quantities of poultry containing high concentrations of nitrofurans.

Another class of introduced microcomponents are polyaromatic hydrocarbons (PAHs). They are released from thermally heated wood and enter food systems obtained by smoking technologies. PAHs represent a rather high level of hazard and have carcinogenic properties [54].

It is shown that the main PAHs from smoldering wood enter the fatty tissue of a meat product when smoking, in particular at a temperature of 55 °C with concentrations increasing with time, µg/kg: cyclopenta[c, d]pyrene 0.41–3.43; benz[a]anthracene 0.18–1.25; chrysene 0.14–1.19; 5-methylchrysene 0.03–0.08; benz[j]fluoranthene 0.01–0.07; benz[b]fluoranthene 0.03–0.92; benz[k]fluor-

anthene 0.03–0.34; benz[a]pyrene 0.11–0.81; dibenzo[a, l]pyrene 0.02–0.03; dibenz[a, h]anthracene 0.1–0.18; benz[g, h, i]perylene 0.37–0.76; indene [1,2,3-cd]pyrene 0.07–0.40; dibenz[a, e]pyrene 0.03–0.64; dibenz[a, i]pyrene 0.01–0.02; dibenz[a, h]pyrene 0.01–0.04 [55].

The entrance of such substances into food products should be minimized; so at the legislative level, their residual content is monitored. At present, the national normative documentation establishes the maximum allowable level of the content of one of the PAHs — benz[a]pyrene at the level of 1 µg/kg. The European standards apply the maximum limits for four PAHs: benz[a]pyrene, chrysene, benz[a]anthracene and benzo[b]fluoranthene, the total content of which should not exceed 2.0 µg/kg.

The fat components of food products, because of their high solubilizing ability in relation to aromatic compounds, are good accumulators of PAH. The maximum absorption rate of PAHs by lipids of the fat phase at the initial stages of the smoking process can vary from  $0.14 \cdot 10^{-5}$  to  $3.47 \cdot 10^{-5} \mu\text{g} \times \text{l}^{-1} \times \text{s}^{-1}$  with a temperature increase from 40 to 55 °C [55].

Our recent research shows that the microcomponent composition largely determines the taste and aromatic characteristics of food systems. The composition of microfractions includes, according to chromatographic spectroscopy, several hundred different organic substances, a list of which is given in the literature [56,57,58]. Some of these substances synergistically form the taste and aroma of products, and some, at certain concentrations, may be unsafe for human health.

### Conclusion

Thus, consideration of the issues of the microcomponent state of food systems shows that modern foods can include a variety of organic compounds; the presence of some of them cannot be considered a positive factor. The high level of individual microcomponents seems to be responsible for the tendency of manifestation of various diseases, many of which were not previously characteristic of humans. The formation of scientific principles for obtaining products, taking into account possible unfavorable trends in the use of substandard ingredients, is an important task of manufacturing and using modern food systems.

## БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Иванкин, А.Н., Неклюдов, А.Д., Вострикова, Н.Л. (2011). Биологически активные соединения природного происхождения. Saarbrucken, Lambert Academic Publishing.—488 с. ISBN: 9783844356878
2. Вострикова, Н.Л., Кузнецова, О.А., Куликовский, А.В., Минаяев, М.Ю. (2017). Формирование научного базиса метаданных, связанных с оценками «онко» рисков, ассоциированными с мясной продукцией. Теория и практика переработки мяса, 2(4), 96–113.
3. Иванкин, А.Н., Лисицын, А.Б., Вострикова, Н.Л., Куликовский, А.В. (2014). Масс-спектрометрическая идентификация химических компонентов вкусо-ароматической гаммы мясной продукции. Международная научно-практическая конференция, посвященная памяти Василия Матвеевича Горбатова. М, ВНИИМП. 1, 77–80.
4. De Wijk, R.A., Kooijman, V., Verhoeven, R.H.G., Holthuysen, N.T.E., De Wijk, C. (2012). Autonomic nervous system responses on and facial expressions to the sight, smell, and taste of liked and disliked foods. *Food quality and preference*, 26(2), 196–203.
5. Никитина, М.А., Захаров, А.Н., Насонова, В.В., Лисицын, А.Б. (2017). Моделирование как метод научного познания сложных мясных систем. Теория и практика переработки мяса, 2(3), 66–78.
6. Ivankin, A., Boldirev, V., Fadeev, G., Baburina, M., Kulikovskii, A., Vostrikova, N. (2017). Denaturation of collagen structures and their transformation under the physical and chemical effects. *IOP Conf. Series: Journal of Physics: Conf. Series*. 918. 012010, 1–5.
7. Лисицын, А.Б., Иванкин, А.Н., Неклюдов, А.Д. (2002). Методы практической биотехнологии. М, ВНИИМП.—402 с.

8. Kulikovskii, A.V., Gorlov, I.F., Slozhenkina, M.I., Lisitsyn, A.B., Savchuk, S.A. (2016). Determination of growth hormones ( $\beta$ -agonists) in muscle tissue by HPLC with mass spectrometric detection. *Journal of Analytical Chemistry*, 71(10), 1052–1056.
9. Куликовский, А.В., Лисицын, А.Б., Кузнецова, О.А., Вострикова, Н.Л., Горлов, И.Ф. (2016). Методические аспекты определения органического йода (йодтирозинов) в пищевых продуктах. *Вопросы питания*, 85(4), 91–97.
10. Лисицын, А.Б., Никитина, М.А., Захаров, А.Н., Сусь, Е.Б., Насонова, В.В. (2016). Моделирование качества мясной продукции. *Пищевая промышленность*, 10, 50–54.
11. Lisitsyn, A.B., Kriger, O.V., Mitrokhin, P.V. (2016). Study of chemisrty and hydrolysates drying parameters of feather-downy raw material. *Foods and Raw Materials*, 4(1), 44–50.
12. Вострикова, Н.Л., Куликовский, А.В., Иванкин, А.Н., Беляков, В.А., Тарасов, С.М. (2018). Обзор биохимических особенностей получения пищи на основе современных пищевых систем. *Все о мясе*, 1, 10–15.
13. Энциклопедический словарь. Мясная промышленность. (2015). Под ред. А.Б. Лисицына. М, ВНИИМП.— 246 с. ISBN 978-5-901768-26-6.
14. Proteins in food processing (Second Edition). Edited by: Rickey Y. Yada. (2018). N.Y.: Elsevier.—704 p. ISBN: 978-0-08-100722-8
15. Неклюдов, А.Д., Иванкин, А.Н. (2007). Коллаген: получение, свойства и применение. М, ГОУ ВПО МГУЛ.— 336 с. ISBN: 5-8135-0376-5
16. Neklyudov, A.D., Ivankin, A.N., Berdutina, A.V. (2000). Properties and uses of protein hydrolysates. *Applied Biochemistry and Microbiology*, 36(5), 452–459.
17. Гринштейн, Д., Винниц, М. (1966). Химия аминокислот и пептидов. М, Мир.—824 с.
18. Иванкин, А.Н., Олиференко, Г.Л., Куликовский, А.В., Чернуха, И.М., Семенова, А.А., Спиридонов, К.И., Насонова, В.В. (2016). Определение ненасыщенных жирных кислот с мигрирующей двойной связью в сложных биологических матрицах методом газовой хроматографии с пламенно-ионизационным и масс-спектрометрическим детектированием. *Журнал аналитической химии*, 71(11), 1188–1195.
19. Иванкин, А.Н. (2007). Жиры в составе современных мясных продуктов. *Мясная индустрия*, 6, 8–13.
20. Ivankin, A.N., Kulikovskii, A.V., Vostrikova, N.L., Chernukha, I.M. (2014). Cis- and trans- conformational changes of bacterial fatty acids in comparison with analogs of animal and vegetable origin. *Applied Biochemistry and Microbiology*, 50(6), 668–674.
21. Любецкая, Т.Р., Бронникова, В.В., Прошина, О.П., Фадеев, Г.Н., Болдырев, В.С., Иванкин, А.Н. (2017). Цис-, транс-изомеризация бинарных смесей жиров растительного и животного происхождения. *Все о мясе*, 6, 52–55.
22. AL-Jawadi, A., Moussa, H., Ramalingam, L., Dharamawardhane, S., Gollahon, L., Gunaratne, P., Layeequr Rahman, R., Moustaid-Moussa, N. (2018). Protective properties of n-3 fatty acids and implications in obesity-associated breast cancer. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, 53, 1–8.
23. Ravindran, V., Tancharoenrat, P., Zaefarian, F., Ravindran, G. (2016). Fats in poultry nutrition: Digestive physiology and factors influencing their utilization. *Animal Feed Science and Technology*, 213, 1–21.
24. Berliner, J.A., Subbanagounder, G., Leitinger, N., Watson, A.D., Vora, D. (2001). Evidence for a role of phospholipid oxidation products in atherogenesis. *Trends in Cardiovascular Medicine*, 11(3–4), 142–147.
25. Aaslyng, M.D., Meinert, L. (2017). Meat flavour in pork and beef – From animal to meal. *Meat Science*, 132, 112–117.
26. Farouk, M.M., Yoo, M.J.Y., Hamid, N.S.A., Staincliffe, M., Davies, B., Knowles, S.O. (2018). Novel meat-enriched foods for older consumers. *Food Research International*, 104, 134–142.
27. Патент 121249. Устройство для определения содержания углеводоров/ Иванкин, А.Н., Олиференко, Г.Л., Вострикова, Н.Л. Устюгов, А.В. Опубл. 20.10.12. Бюлл. № 29.
28. Pöösö, A.R., Puolanne, E. (2005). Carbohydrate metabolism in meat animals. *Meat Science*, 70(3 SPEC. ISS), 423–434.
29. Ivankin, A.N., Vostrikova, N.L. (2012). Biochemical transformations of lipide and carbohydrate-protein nano complex in liquid foodstuff. *International Journal of Food Science and Nutrition Engineering*, 2(3), 27–32.
30. Jose, C.G., Jacob, R.H., Pethick, D.W., Gardner, G.E. (2018). A supply chain approach to improving the shelf life of lambmeat; vitamin E concentration, electrical stimulation, ageing period and packaging system. *Meat Science*, 139, 65–73.
31. Ortuño, J., Serrano, R., Bañón, S. (2015). Antioxidant and antimicrobial effects of dietary supplementation with rosemary di-
- terpenes (carnosic acid and carnosol) vs vitamin E on lamb meat packed under protective atmosphere. *Meat Science*, 110, 62–69.
32. De Smet, S., Vossen, E. (2016). Meat: The balance between nutrition and health. A review. *Meat Science*, 120, 145–156.
33. Юсупов, Е.В., Бершова, Т.М., Кузнецова, А.В., Неклюдов, А.Д., Иванкин, А.Н. (2009). Экология пищи: взаимосвязь качества сырья животного происхождения и продуктов на его основе с уровнем содержания свободных аминокислот и биогенных аминов. *Экологические системы и приборы*, 12, 35–42.
34. Kuznetsov, A.V., Kostenko, Yu.G., Ivankin, A.N. (2003). Cadaverin determination in meat and the possibility of using it in meat freshness assessment. *Proceedings of the 49th International Congress of Meat Science and Technology*, Brazil, Rio, 283–284.
35. Иванкин, А.Н., Костенко, Ю.Г., Кузнецова, А.В., Неклюдов, А.Д., Бершова, Т.М., Попова, Н.В., Дмитриев, М.А. (2004). Биогенные метаболиты в системе экологического мониторинга безопасности сырья и продовольствия. *Экологические системы и приборы*, 8, 5–11.
36. Яцюта, А.Л., Никитченко, Д.В., Иванкин, А.Н., Костенко, Ю.Г., Неклюдов, А.Д. (2006). Экология питания. Стабильность биохимических свойств мясных продуктов при длительном хранении. *Экологические системы и приборы*, 4, 40–42.
37. Stadtman, E.R., Levine, R.L. (2000). Protein oxidation. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 899, 191–208.
38. Bover-Cid, S., Hugas, M., Izquierdo-Pulido, M., Vidal-Carou, M.Carmen (2001). Amino acid-decarboxylase activity of bacteria isolated from fermented pork sausages. *International Journal of Food Microbiology*, 66(3), 185–189.
39. Панов, Д.К., Патиева, С.В. (2015). Накопление биогенных аминов при производстве сыроподобных и сыровяленых колбас. *Молодой ученый*, 15(95), 147–150.
40. Куликовский, А.В., Иванкин, А.Н., Николаева, А.С., Князева, А.С. (2016). Оценка содержания и аккумуляции биогенных аминов в мясной продукции. *Все о мясе*, 5, 18–21.
41. Фомин, Г.С. (2000). Вода. Контроль химической, бактериальной и радиационной безопасности по международным стандартам. Энциклопедический справочник.— 3-е изд., перераб. и доп. М, Протектор.—848 с.
42. Comprehensive biotechnology. The principles of biotechnology. V.2 / Ed. Moo-Young M. N.Y.: Pergamon press, 1985.—757 р.
43. Устинова, А.В., Тимошенко, Н.В. (1997). Мясные продукты для детского питания. М, ВНИИМП.—251 с.
44. Иванкин, А.Н., Осотов, А.А. (1995). Анализ вредных веществ в окружающей среде и технико-экономический анализ химических процессов. М, МГУЛ.—28 с.
45. Rebiere, H., Guinot, P., Chauvey, D., Brenier, C. (2017). Fighting falsified medicines: The analytical approach. Review. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 142, 286–306.
46. Государственный каталог пестицидов и агрохимикатов, разрешенных к применению на территории Российской Федерации. [Электронный ресурс: [http://www.pesticide.ru/ps-content/literature/files/Государственный\\_каталог\\_2015\\_2743\\_instructions.pdf](http://www.pesticide.ru/ps-content/literature/files/Государственный_каталог_2015_2743_instructions.pdf). Дата обращения 20.02.2018]
47. Медико-биологические требования и санитарные нормы качества продовольственного сырья и пищевых продуктов. [Электронный ресурс: <http://dokipedia.ru/document/5149136>. Дата обращения 26.02.2018]
48. СанПин 2.3.2.1280–03. Гигиенические требования безопасности и пищевой ценности пищевых продуктов. М, Госсанэпиднадзор, 2003,—395 с.
49. Технический регламент Таможенного союза ТР ТС 021/2011. О безопасности пищевой продукции. М, Комиссия Таможенного союза № 880, 2011.—242 с.
50. Ivankin, A.N., Karpo, B.S., Galkin, A.V. (1998). Analysis of agricultural toxicants in meat products by ELISA method. *Proceedings of the 44th International Congress of Meat Science and Technology*, Barcelona, Spain, 374–375.
51. Иванкин, А.Н., Неклюдов, А.Д., Бердутина, А.В., Карпо, Б.С., Галкин, А.В. (1999). Экологическая безопасность мясных продуктов. *Хранение и переработка сельхозсырья*, 3, 27–30.
52. Mitra, M.S., Philip, B.K. (2014). Diethylstilbestrol. *Encyclopedia of Toxicology* (Third Edition). London: Elsevier, 143–145.
53. Niño, A.M.M., Granja, R.H.M.M., Wanschel, A.C.B.A., Salerno, A.G. (2017). The challenges of ractopamine use in meat production for export to European Union and Russia. *Food Control*, 72, 289–292.
54. Куликовский, А.В., Горлов, И.Ф., Сложенкина, М.И., Иванкин, А.Н., Вострикова, Н.Л., Кузнецова, О.А. (2017). Комплексная оценка содержания полициклических ароматических углеводородов и особенности их накопления в мясной продукции. *Вопросы питания*, 86(6), 125–133.

55. Kulikovskii, A.V., Ivankin, A.N., Chernukha, I.M., Vostrikova, N.L. (2013). Investigation of PAH (polycyclic aromatic hydrocarbons) and strategies of their decrease in smoked meat products. *6th International Symposium on Recent Advances in Food Analysis, Prague, Czech Republic*, 406.
56. Thorslund, C.A.H., Sandøe, P., Margi, t D.A., Lassen, J. (2016). A good taste in the meat, a good taste in the mouth animal welfare as an aspect of pork quality in three European countries. *Livestock Science*, 193, 58–65.
57. Иванкин, А.Н., Фадеев, Г.Н., Болдырев, В.С., Прошина, О.П., Куликовский, А.В., Семенова, А.А., Насонова, В.В. (2017). Вкусо-ароматические компоненты пищевых рецептур, формируемые в присутствии бактериальных культур. *Известия Вузов. Прикладная химия и биотехнология*, 7(3(22)), 124–136.
58. Swanepoel, M., Leslie, A.J., Hoffman, L.C. (2016). Comparative analyses of the chemical and sensory parameters and consumer preference of a semi-dried smoked meat product (cabanossi) produced with warthog and domestic pork meat. *Meat Science*, 114, 103–113.

## REFERENCES

1. Ivankin, A.N., Neklyudov, A.D., Vostrikova, N.L. (2011). Biologically active compounds of natural origin. Saarbrucken: Lambert Academic Publ.—480 p. ISBN: 9783844356878 (In Russian)
2. Vostrikova, N.L., Kuznetsova, O.A., Kulikovskii, A.V., Minaev, M.Y. (2017). Formation of the scientific basis of meta-data associated with estimates of «onco» risks linked to meat products. *Theory and practice of meat processing*, 2(4), 96–113. (In Russian)
3. Ivankin, A.N., Lisitsyn, A.B., Vostrikova, N.L., Kulikovskii, A.V. (2014). Mass-spectrometric identification of chemical components of flavor palette of meat products. International scientific and practical conference dedicated to the memory of Vasily Matveyevich Gorbatov. Moscow: VNIIMP, 1, 77–80. (In Russian)
4. De Wijk, R.A., Kooijman, V., Verhoeven, R.H.G., Holthuysen, N.T.E., De Wijk, C. (2012). Autonomic nervous system responses on and facial expressions to the sight, smell, and taste of liked and disliked foods. *Food quality and preference*, 26 (2), 196–203.
5. Nikitina, M.A., Zakharov, A.N., Nasonova, V.V., Lisitsyn, A.B. (2017). Modeling as a method for scientific cognition of complex meat systems. *Theory and practice of meat processing*, 2(3), 66–78. (In Russian)
6. Ivankin, A., Boldirev, V., Fadeev, G., Baburina, M., Kulikovskii, A., Vostrikova, N. (2017). Denaturation of collagen structures and their transformation under the physical and chemical effects. *IOP Conf. Series: Journal of Physics: Conf. Series*. 918. 012010, 1–5.
7. Lisitsyn, A.B., Ivankin, A.N., Neklyudov, A.D. (2002). Methods of practical biotechnology. M: VNIIMP.—402 p. (In Russian)
8. Kulikovskii, A.V., Gorlov, I.F., Slozhenkina, M. I., Lisitsyn, A.B., Savchuk, S.A. (2016). Determination of growth hormones ( $\beta$ -agonists) in muscle tissue by HPLC with mass spectrometric detection. *Journal of Analytical Chemistry*, 71(10), 1052–1056.
9. Kulikovskiy, A.V., Lisitsyn, A.B., Kuznetsova, O.A., Vostrikova, N.L., Gorlov, I.F. (2016). Method of determination organic iodine (iodotyrosines) in food. *Voprosy Pitaniia*, 85 (4), 91–97. (In Russian)
10. Lisitsyn, A.B., Nikitina, M.A., Zakharov, A.N., Sus', E.B., Nasonova, V.V. (2016). Modeling of Meat Product Quality. *Food industry*, 10, 50–54. (In Russian)
11. Lisitsyn, A.B., Kriger, O.V., Mitrokhin, P.V. (2016). Study of chemistry and hydrolysates drying parameters of feather-downy raw material. *Foods and Raw Materials*, 4 (1), 44–50.
12. Vostrikova, N.L., Kulikovskii, A.V., Ivankin, A.N., Belyakov, V.A., Tarasov, S.M. (2018). Biochemical features of obtaining food based on modern food systems. Review. *Vsyo o myase*, 1, 10–15. (In Russian)
13. Collegiate Dictionary. Meat industry.(2015) Ed. A.B. Lisitsin. Moscow: VNIIMP.—246 c. ISBN978-5-901768-26-6. (In Russian)
14. Proteins in food processing (Second Edition). Edited by: Rickey Y. Yada. (2018). N.Y.: Elsevier.—704 p. ISBN: 978-0-08-100722-8
15. Neklyudov, A.D., Ivankin, A.N. (2007). Collagen: obtaining, properties and application. Moscow: MGUL Publ.,—336 p. ISBN: 5-8135-0376-5 (In Russian)
16. Neklyudov, A.D., Ivankin, A.N., Berdutina, A.V. (2000). Properties and uses of protein hydrolysates. *Applied Biochemistry and Microbiology*, 36(5), 452–459.
17. Grinshtain, D., Vinitz, M. (1966). Chemistry of amino acids and peptides. Moscow: Mir,—824 p. (In Russian)
18. Ivankin, A.N., Oliferenko, G.L., Kulikovskii, A.V., Chernukha, I.M., Semenova, A.A., Spiridonov, K.I., Nasonova, V.V. (2016). Determination of unsaturated fatty acids with a migrating double bond in a complex of matrices by gas chromatography with flame ionization and mass spectrometry detection. *Journal of Analytical Chemistry*, 71(11), 1131–1137.
19. Ivankin, A.N. (2007). Fats in the composition of modern meat products. *Meat industry*, 6, 8–13. (In Russian)
20. Ivankin, A.N., Kulikovskii, A.V., Vostrikova, N.L., Chernuha, I.M. (2014). Cis and trans conformational changes of bacterial fatty acids in comparison with the analogs of animal and vegetable origin. *Applied Biochemistry and Microbiology*, 50(6), 668–674.
21. Lyubetskaya, T.R., Bronnikova, V.V., Proshina, O.P., Fadeev, G.N., Boldirev, V.S., Ivankin, A.N. (2017). Cis-, trans-isomerization of binary mixtures of fats of vegetable and animal origin. *Vsyo o myase*, 6, 52–55. (In Russian)
22. Al-Jawadi, A., Moussa, H., Ramalingam, L., Dharamawardhane, S., Gollahon, L., Gunaratne, P., Layeequr Rahman, R., Moustaid-Moussa, N. (2018). Protective properties of n-3 fatty acids and implications in obesity-associated breast cancer. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, 53, 1–8.
23. Ravindran, V., Tancharoenrat, P., Zaefarian, F., Ravindran, G. (2016). Fats in poultry nutrition: Digestive physiology and factors influencing their utilization. *Animal Feed Science and Technology*, 213, 1–21.
24. Berliner, J.A., Subbanagounder, G., Leitinger, N., Watson, A.D., Vora, D. (2001). Evidence for a role of phospholipid oxidation products in atherosclerosis. *Trends in Cardiovascular Medicine*, 11(3–4), 142–147.
25. Aaslyng, M.D., Meinert, L. (2017). Meat flavor in pork and beef – From animal to meal. *Meat Science*, 132, 112–117.
26. Farouk, M.M., Yoo, M.J.Y., Hamid, N.S.A., Staincliffe, M., Davies, B., Knowles, S.O. (2018). Novel meat-enriched foods for older consumers. *Food Research International*, 104, 134–142.
27. Ivankin, A.N., Oliferenko, G.L., Vostrikova, N.L., Ustyugov, A.V. A device for determining the content of carbohydrates. Patent RF, no. 121249, 2012. (In Russian)
28. Pöösö, A.R., Puolanne, E. (2005). Carbohydrate metabolism in meat animals. *Meat Science*, 70(3 SPEC. ISS), 423–434.
29. Ivankin, A.N., Vostrikova, N.L. (2012). Biochemical transformations of lipide and carbohydrate-protein nano complex in liquid foodstuff. *International Journal of Food Science and Nutrition Engineering*, 2 (3), 27–32.
30. Jose, C.G., Jacob, R.H., Pethick, D.W., Gardner, G.E. (2018). A supply chain approach to improving the shelf life of lamb meat; vitamin E concentration, electrical stimulation, ageing period and packaging system. *Meat Science*, 139, 65–73.
31. Ortúñoz, J., Serrano, R., Bañón, S. (2015). Antioxidant and antimicrobial effects of dietary supplementation with rosemary diterpenes (carnosic acid and carnosol). *Meat Science*, 110, 62–69.
32. De Smet, S., Vossen, E. (2016). Meat: The balance between nutrition and health. A review. *Meat Science*, 120, 145–156.
33. Yusupov, E.V., Bershova, T.M., Kuznetsov, A.V., Neklyudov, A.D., Ivankin, A.N. (2009). Ecology of food: intercoupling of a quality cheeses of animal origin and products on its base with contents level of free amino acid and biogenic amines. *Ecological systems and devices*, 12, 35–42. (In Russian)
34. Kuznetsov, A.V., Kostenko, Yu.G., Ivankin, A.N. (2003). Cadaverin determination in meat and the possibility of using it in meat freshness assessment. *Proceedings of the 49th International Congress of Meat Science and Technology*, Brazil, Rio, 283–284.
35. Ivankin, A.N., Kostenko, Yu.G., Kuznetsov, A.V., Neklyudov, A.D., Bershova, T.M., Popova, N.V., Dmitriev, M.A. (2004). Biogenic metabolites in the system of ecological monitoring of the safety of raw materials and food. *Ecological systems and devices*, 8, 5–11. (In Russian)
36. Yatsyuta, A.L., Nikitchenko, D.V., Ivankin, A.N., Kostenko, Yu.G., Neklyudov, A.D. (2006). Feed ecology. Stability of biochemical qualities of meat goods in a view of long-term storage. *Ecological systems and devices*, 4, 40–42. (In Russian)
37. Stadtman, E.R., Levine, R.L. (2000). Protein oxidation. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 899, 191–208.
38. Bover-Cid, S., Hugas, M., Izquierdo-Pulido, M., Vidal-Carou, M.Carmen (2001). Amino acid-decarboxylase activity of bacteria isolated from fermented pork sausages. *International Journal of Food Microbiology*, 66(3), 185–189.
39. Panov D.K., Patieva, S.V. (2015). Accumulation of biogenic amines in the production of raw and smoked sausages. *The young scientist*, 15(95), 147–150. (In Russian)
40. Kulikovskii, A.V., Ivankin, A.N., Nikolaeva, A.S., Knyazeva, A.S. (2016). Entent and accumulation of biogenic amines in meat products. *Vsyo o myase*, 5, 18–21. (In Russian)

41. Fomin, G.S. (2000). Water. Control of chemical, bacterial and radiation safety according to international standards. Encyclopedic reference book.— 3rd ed., pererab. and additional Moscow: Protector.—848 p. (In Russian)
42. Comprehensive biotechnology. The principles of biotechnology. V.2 / Ed. Moo-Young M. N.Y.: Pergamon press, 1985,—757 p.
43. Ustinova, A.V., Timoshenko, N.V. (1997). Meat products for baby food. M: VNIIMP.—251 p. (In Russian)
44. Ivankin, A.N., Osotov, A.A., (1995). Analysis of harmful substances in the environment and technical and economic analysis of chemical processes. Moscow: MGUL.— 28 p. (In Russian)
45. Rebiere, H., Guinot, P., Chauvey, D., Brenier, C. (2017). Fighting falsified medicines: The technical approach. Review. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 142, 286–306.
46. State catalog of pesticides and agrochemicals allowed for use on the territory of the Russian Federation. [Electronic resource: [http://www.pesticidy.ru/ps-content/literature/files/State\\_Catalog-ue\\_2015\\_2743\\_instructions.pdf](http://www.pesticidy.ru/ps-content/literature/files/State_Catalog-ue_2015_2743_instructions.pdf). Access date 20/02/2018]. (In Russian)
47. Medical and biological requirements and sanitary norms of quality of food raw materials and food products. [Electronic resource: <http://dokipedia.ru/document/5149136> Access date 26/02/2018]. (In Russian)
48. SanPin 2.3.2.1280-03. Hygienic requirements for food safety and food value. Moscow: Gossanepidnadzor.2003.—395 p. (In Russian)
49. Technical regulations of the Customs Union TR CU021/2011. On the safety of food products. M: The Commission of the Customs Union No. 880, 2011.—242 p. (In Russian)
50. Ivankin, A.N., Karpo, B.S., Galkin, A.V. (1998). Analysis of agricultural toxicants in meat products by ELISA method. Proceedings of the 44th International Congress of Meat Science and Technology, Barcelona, Spain, 374–375.
51. Ivankin, A.N., Neklyudov, A.D., Berdutina, A.V., Karpo, B.S., Galkin, A.V. (1999). Ecological safety of meat products. *Storage and processing of farm products*, 3, 27–30. (In Russian)
52. Mitra, M.S., Philip, B.K. (2014). Diethylstilbestrol. Encyclopedia of Toxicology (Third Edition). London: Elsevier, 143–145.
53. Niño, A.M.M., Granja, R.H.M.M., Wanschel, A.C.B.A., Salerno, A.G. (2017). The challenges of ractopamine use in meat production for export to European Union and Russia. *Food Control*, 72, 289–292.
54. Kulikovskii, A.V., Gorlov, I.F., Slozhenkina, M.I., Ivankin, A.N., Vostrikova, N.L., Kuznetsova, O.A. (2017). Comprehensive assessment of the content of polycyclic aromatic hydrocarbons and dependence of their accumulation in meat products. *Voprosy Pitanija*, 86 (6), 125–133. (In Russian)
55. Kulikovskii, A.V., Ivankin, A.N., Chernukha, I.M., Vostrikova, N.L. (2013). Investigation of PAH (polycyclic aromatic hydrocarbons) and strategies of their decrease in smoked meat products. 6th International Symposium on Recent Advances in Food Analysis, Prague, Czech Republic, 406.
56. Thorslund, C.A.H., Sandøe, P., Margit, D.A., Lassen, J. (2016). A good taste in the meat, a good taste in the mouth. Animal health as an aspect of pork quality in three European countries. *Livestock Science*. 193, 58–65.
57. Ivankin, A.N., Fadeev, G.N., Boldyrev, V.S., Proshina, O.P., Kulikovskii, A.V., Semenova, A.A., Nasonova, V.V. (2017). Food flavouring ingredients of food recipes developed in the presence of bacterial cultures. *Izvestiya Vuzov. Prikladnaya Khimiya i Biotekhnologiya*, 7 (3(22)), 124–136. (In Russian)
58. Swanepoel, M., Leslie, A.J., Hoffman, L.C. (2016). Comparative analysis of the chemical and sensory parameters and consumer preference of a semi-dried smoked meat product (cabanossi) produced with warthog and domestic pork meat. *Meat Science*, 114, 103–113.

## СВЕДЕНИЯ О АВТОРАХ

### Принадлежность к организации

**Иванкин Андрей Николаевич** — доктор химических наук, профессор, академик МАН ВШ, заведующий кафедрой химии, Московский государственный технический университет (национальный исследовательский университет) им. Н.Э. Баумана  
141005, г. Мытищи, 1-я Институтская, 1  
Тел.: +7-498-687-36-00  
e-mail: aivankin@inbox.ru  
\*автор для переписки

**Вострикова Наталья Леонидовна** — кандидат технических наук, заведующий лабораторией «Научно-методические работы, биологические и аналитические исследования», Федеральный научный центр пищевых систем им. В.М. Горбатова РАН  
109316, г. Москва, ул. Талалихина, 26  
Тел.: +7-495-676-99-71  
E-mail: n.vostrikova@fncps.ru

**Куликовский Андрей Владимирович** — кандидат технических наук, руководитель направления хроматографии, ведущий научный сотрудник в лаборатории «Научно-методические работы, биологические и аналитические исследования», Федеральный научный центр пищевых систем им. В.М. Горбатова РАН  
109316 г. Москва, ул. Талалихина 26,  
Тел.: +7-495-676-79-61  
E-mail: a.kulikovskii@fncps.ru

**Олиференко Галина Львовна** — кандидат химических наук, доцент, кафедра химии, Московский государственный технический университет (национальный исследовательский университет) им. Н.Э. Баумана  
141005, г. Мытищи, 1-я Институтская, 1  
Тел.: +7-498-687-36-00  
E-mail: oliferenko2@inbox.ru

### Критерии авторства

Авторы в равных долях имеют отношение к написанию рукописи и одинаково несут ответственность за plagiat

### Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов

Поступила 16.02.2018

## AUTHOR INFORMATION

### Affiliation

**Andrew N. Ivankin** — doctor of chemical sciences, professor, academician of the International Higher Education Academy of Sciences, Head of the Department of Chemistry, Bauman Moscow State Technical University

141005, Mitishi, 1-st Institutskaya str., 1

Tel.: +7-498-687-36-00

e-mail: aivankin@inbox.ru

\*corresponding author

**Natal'ya L. Vostrikova** — candidate of technical sciences, head of Laboratory «Scientific and methodical work, biological and analytical research», V.M. Gorbatov Federal Research Center for Food Systems of Russian Academy of Sciences

109316, Moscow, Talalikhina str., 26

Tel.: +7-495-676-99-71

E-mail: n.vostrikova@fncps.ru

**Andrey V. Kulikovskii** — candidate of technical sciences, a head chromatography laboratory, leading scientific worker of the Laboratory «Scientific and methodical work, biological and analytical research», V.M. Gorbatov Federal Research Center for Food Systems of Russian Academy of Sciences

109316, Moscow, Talalikhina str., 26

Tel.: +7-495-676-79-61

E-mail: a.kulikovskii@fncps.ru

**Galina L. Oliferenko** — candidate of chemical sciences, docent, Department of Chemistry, Bauman Moscow State Technical University

141005, Mitishi, 1-st Institutskaya str., 1

Tel.: +7-498-687-36-00

E-mail: oliferenko2@inbox.ru

### Contribution

Authors are equally relevant to the writing of the manuscript, and equally responsible for plagiarism

### Conflict of interest

The authors declare no conflict of interest

Received 16.02.2018

# СОВРЕМЕННЫЕ ТЕНДЕНЦИИ РАЗВИТИЯ ИНДУСТРИИ ФУНКЦИОНАЛЬНЫХ ПИЩЕВЫХ ПРОДУКТОВ В РОССИИ И ЗА РУБЕЖОМ

Лисицын А.Б., Чернуха И.М., Лунина О.И.

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

**Ключевые слова:** функциональный пищевой продукт, функциональный пищевой ингредиент, биологически активные пептиды

## Аннотация

Современные технологии производства пищевых продуктов, часто приводящие к потери основных нутриентов перерабатываемого сырья, введение в рецептуры пищевых продуктов огромного количества, ингредиентов, в некоторых случаях научно не обоснованных, приводит к необходимости изыскания нового пути повышения питательной ценности и оздоровления современных пищевых продуктов.

Функциональные пищевые продукты — один из путей решения данной проблемы, который давно интересует ученое сообщество, как за рубежом, так и в России. В статье представлена информация по истории создания и тенденциям развития индустрии функциональных пищевых продуктов в России и за рубежом. Представлены материалы по современным направлениям создания функциональных продуктов на основе мясного сырья, инновационным способам их производства и проблемам, возникающим при их создании.

Review paper

## MODERN TRENDS IN THE DEVELOPMENT OF THE FUNCTIONAL FOOD INDUSTRY IN RUSSIA AND ABROAD

Andrey B. Lisitsyn, Irina M. Chernukha, Olga I. Lunina

V.M. Gorbatov Federal Research Center for Food Systems of Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia

**Key words:** functional food product, functional food ingredient, biologically active peptides

## Abstract

Modern technologies of food production that often lead to losses in the main nutrients of processed raw materials, incorporation into food recipes of large amounts of ingredients, which are sometimes not scientifically substantiated, lead to a necessity to find a new way for increasing the nutritional value of modern products and making them healthier.

Functional foods are one of the ways to solve this problem, which have long been of great interest to Russian and international scientific society. The paper presents the information about the history of creation and trends in the development of the functional food industry in Russia and abroad, as well as the materials about the modern directions of designing meat-based functional foods, innovative methods for their production and problems arising in the process of their designing.

## Введение

Состав современных пищевых продуктов претерпел большие изменения за последние годы и включает огромное количество пищевых добавок, которые с одной стороны улучшают вкусовые, технологические, функциональные свойства готового продукта, с другой — при длительном их поступлении в организм человека, увеличивают риски возникновения различных заболеваний.

Высок уровень фальсифицированной продукции, в которой высокое по стоимости сырье заменяется более дешевыми аналогами с дополнительным введением пищевых добавок. Особенно это относится к наиболее востребованному потребителем сегменту на рынке продаж — пищевым продуктам, выработанным по ГОСТ.

Каждая пищевая добавка проходит обязательные испытания по показателям безопасности. Однако комплексных исследований по изучению соединений, образующихся в продукте в результате технологической обработки сырья и комплекса вводимых пищевых добавок, а также их влияния на физиологические функции организма зачастую не проводится.

По разным данным, в год среднестатистический человек съедает от 2 до 9 кг пищевых добавок. Большинство из них искусственного происхождения. Некоторые запрещены в России, по поводу многих из разрешенных в нашей стране среди медиков и диетологов идут споры о рисках их потребления (данные доклада д.м.н. Сергеева В.Н. (ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр реабилитации

**ДЛЯ ЦИТИРОВАНИЯ:** Лисицын А.Б., Чернуха И.М., Лунина О.И. Современные тенденции развития индустрии функциональных пищевых продуктов в России и за рубежом. Теория и практика переработки мяса. 2018;3(1):29–45. DOI 10.21323/2414-438X-2018-3-1-29-45

**FOR CITATION:** Lisitsyn A.B., Chernukha I.M., Lunina O.I. Modern trends in the development of the functional food industry in Russia and abroad. Theory and practice of meat processing. 2018;3(1):29–45. (In Russ.) DOI 10.21323/2414-438X-2018-3-1-29-45

и курортологии Минздрава России») на 1-й научно-практической конференции «Функциональные продукты питания: научные основы разработки, производства и потребления».

Другой причиной нутриентной недостаточности является употребление всеми категориями граждан большого количества лекарственных препаратов (хронические болезни, в том числе желудочно-кишечного тракта, периоды эпидемий ОРВИ и гриппа и др.), которые во многих случаях приводят к дефициту некоторых нутриентов, поступаемых с пищевыми продуктами, и возникновению хронических неинфекционных патологий и преждевременному старению.

Сформировалась ситуация, в которой необходимо искать новые направления и создавать современные технологии продуктов здорового питания, позволяющие сохранить питательные вещества исходного сырья, использовать минимально необходимый набор пищевых добавок и возвращать доверие потребителя, в том числе и в мясном сегменте отечественного рынка.

Функциональное питание может быть выходом из сложившейся ситуации. В последние годы этому направлению в пищевой индустрии уделяется большое внимание. Функциональные пищевые продукты (ФПП) предназначены для общего потребления всеми категориями граждан, но отличающиеся тем, что по сравнению с обычным продуктом, они имеют дополнительную пользу для здоровья, гарантированную жесткими требованиями со стороны государства, способствуют профилактике заболеваний, укреплению здоровья и увеличению продолжительности жизни.

В Японии такие продукты называются FOSHU (Foods for specific health use/пищевые продукты со специфическим терапевтическим действием). Молочные, кисломолочные и зерновые функциональные пищевые продукты давно изучены, признаны и пользуются популярностью у потребителя. Рынок мясных функциональных пищевых продуктов малоизвестен отечественному потребителю, который информационно не подготовлен, а мясо и мясная продукция не ассоциируется с функциональными продуктами, благодаря шумихе, поднятой в последнее время в СМИ.

Целью публикации является анализ рынка функциональных пищевых продуктов на мясной основе и систематизация мировых тенденций развития научных исследований в области создания мясных пищевых продуктов для функционального питания.

## **Основная часть**

Согласно международному анализу тенденций рынка потребления функциональных продуктов, проведенному «Georg Morris Centre», по отдельным видам их производство ежегодно возрастает на 5–40% (данные д.м.н. Сергеева В.Н./ФГБУ «Национальный

медицинской исследовательский центр реабилитации и курортологии Минздрава России»).

Темпы роста мировой индустрии здорового питания не уступают темпам развития пищевой промышленности. Японии принадлежит 39,2 % мирового уровня рынка функциональных продуктов, США — 31,1%, пяти европейским странам (Испания, Италия, Германия, Франция и Великобритания) — 28,1%. На мировом рынке функциональных продуктов хлебопекарные и молочные изделия доминируют, составляя 72,9 % [1]. Однако сравнивать объемы выпускаемых ФПП в разных странах мира не вполне корректно из-за различных критериев, согласно которым продукт относят к функциональному. Например, в Японии в отличие от других стран мира, к ФПП относят пищевые продукты в виде капсул, таблеток и др.

В Японии, являющейся законодательницей функциональных пищевых продуктов, более 45 % от общего количества функциональных пищевых продуктов (Food for Specific Health Use, FOSHU) относятся к «поддерживающим нормальное функционирование желудочно-кишечного тракта». Олигосахариды, молочнокислые и бифидобактерии, а также пищевые волокна являются основными активными ингредиентами в данной категории. Далее следуют продукты (21%), «положительно влияющие на людей с высоким уровнем холестерина/триглицеридов в сыворотке крови». К ним относятся продукты в составе которых содержатся соевые протеины, пептиды, пищевые волокна, диацилглицерин и растительный стерол/станол [2].

Некоторые продукты, исторически используемые в национальных кухнях, являются функциональными. В японской — это продукты из сои: «мисо», «соевый соус» и «натто». «Натто» из сквашенных соевых бобов, содержит витамин K<sub>2</sub> (менахинон-7), который способствует поступлению кальция в кости, а соевый белок — активный ингредиент, способный контролировать уровень холестерина в сыворотке крови. «Катсубуши» или вяленый тунец — традиционное блюдо японской кухни, в состав которого входят пептиды, способные снижать кровяное давление. В результате исследований этот факт был подтвержден и к этому продукту разрешено применять заявление «положительно влияет на людей с относительно высоким кровяным давлением». Все вышеперечисленные продукты являются одобренными продуктами FOSHU.

Правительство Японии финансировало исследования физиологического влияния различных пищевых продуктов и их составляющих на предмет так называемых «третичных свойств пищи», которые напрямую вовлечены в регулирование деятельности физиологических систем человека, таких как иммунная, эндокринная, нервная, кровеносная и пищеварительная системы (первичные и вторичные свойства пищи связаны с питательной и вкусовой ценностью).

Результаты исследований позволили выявить критерии, согласно которым пищевые продукты причисляются к функциональным [2].

В США (по данным «Euromonitor International», 2013) ФПП в зависимости от их функциональных свойств классифицируют по следующим категориям (в порядке убывания продаж в 2012 году):

- общее самочувствие;
- управление весом;
- здоровье пищеварительной системы;
- повышение уровня энергии;
- выносливость;
- здоровье полости рта;
- здоровье костей и сосудов;
- пищевая непереносимость.

Среди европейских стран Германия обладает самым большим объёмом рынка функциональных продуктов. По данным Немецкого Союза мясной промышленности (Франкфурт-на-Майне) в Германии 500 мясоперерабатывающих предприятий выпускают исключительно био-продукты, за счет которой многие предприятия расширяют свой традиционный ассортимент колбас и мясопродуктов.

При производстве био-продуктов исключается применение синтетических красителей, усилителей вкуса, консервантов, искусственных и идентичных натуральным ароматизаторов и стабилизаторов. Согласно результатов опроса населения, касательно доверия потребителей, био-мясо и био-продукты занимают первое место.

Так немецкая фирма из Гётtingена «Börner-Eisenacher» сконцентрировала свои усилия на новом био-ассортименте под маркой Biofrisch, а также на расширенной палитре Wellness-продуктов (полезных для здоровья продуктов), которые сохраняют традиционные обычаи производства, но ориентированные на современного потребителя. Содержание жира в продукте снизили, с одной стороны, за счет нежирного сырья (лопатки), а с другой — заменителя жира инулина. Это — салами с 17 % жира, паштеты из окорока и мяса птицы (5 % жира), колбаса для жарки с пониженным содержанием

жира и изделия для гриля (по 9 % жира), а также колбасные изделия мажущейся консистенции, включающие тонкодисперсную ливерную колбасу, ливерные колбасы с яблоком и луком, грубозернистую ливерную колбасу с черемшой, колбасы «Чайную» и «Меттвурст» мажущейся консистенции (14 % жира) [3].

В России объем рынка продуктов здорового питания в 2016 году составил 874095 млн.руб., в 2017 году этот показатель составил 878690 млн руб. По прогнозам в 2021 году отечественной пищевой индустрией будет выпущено продуктов здорового питания на 912477 мл.руб. (Discovery Research Group, 2017 <http://www.sitebs.ru/blogs/34288.html>).

Российский потребитель готов покупать продукты с дополнительной пользой для своего здоровья (Рис. 1) и платить при этом более высокую цену. Это подтверждается результатами опросов населения в рамках проведения исследований рынка функциональных продуктов [4].

Среди критериев выбора продуктов питания 81% из числа опрошенных указали состав продукта, 69 % — цена продукта, 33 % — страна-производитель и 22 % марка продукта [4].

В настоящее время качество продукта и его состав — основные критерии выбора отечественного покупателя, который вчитывается в этикетку и готов покупать более экологически чистые продукты при условии более высокой цены. При этом потребитель внимательнее стал относиться к тому, что он употребляет в пищу, и это отношение меняется в зависимости от уровня образования, социального положения, материальной обеспеченности, возраста и семейного положения.

Исследования и оценка факторов изменения питания в мире показали, что не существует прямой взаимосвязи между потреблением мяса и доходом потребителя, как считалось ранее [5].

К сожалению, производство отечественных функциональных продуктов не вышло на федеральный масштаб: их производят, в основном, на отдельных предприятиях, которые работают с научно-исследова-

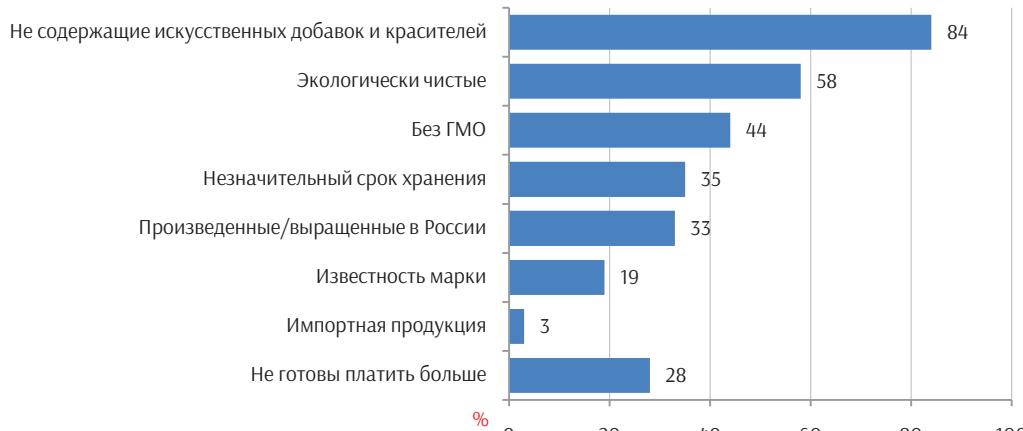


Рис. 1. Характеристики продуктов, за которые потребители готовы платить больше, процент от числа опрошенных

тельскими центрами -разработчиками функциональной продукции.

Рынок функциональных продуктов в России не достигает 5 % от общего объема производства пищевых продуктов. Динамика объемов производства данной продукции в России увеличивается небольшими темпами.

На российском рынке функциональные продукты представлены в основном, четырьмя группами: продукты на основе зерновых культур (каши, хлопья), в том числе хлебобулочные и кондитерские; безалкогольные напитки; молочные продукты; продукты масложировой отрасли. Продукты остальных подотраслей пищевой промышленности представлены в незначительном количестве. Производство функциональных пищевых продуктов с 2007 по 2013 г. увеличилось на 160 % [1].

Продукты функциональной направленности на мясной основе на рынке продуктов питания представлены в меньшем количестве из-за сложности производства (длительной высокотемпературной обработки) и способов сохранности биологически активных компонентов в готовом продукте.

Мясное сырье является источником полноценного белка и может быть отнесено к натуральному функциональному пищевому продукту. Мясо имеет сбалансированный аминокислотный состав, все незаменимые аминокислоты, включая триптофан, лизин и метионин, высокие уровни минеральных элементов (железа, фосфора, цинка, меди, хрома, селена, фтора, калия, серы), в том числе эссенциальных, и витамины группы В, обладает высокой пищевой и биологической ценностью. Причем доступность некоторых нутриентов животного происхождения выше, чем растительного.

Говядина является природным источником конъюгированной линолевой кислоты, которая зарекомендовала себя как антиоксидант, антиканцероген и стимулятор иммунной системы.

Содержащиеся в мясе карнозин и ансерин представляют собой антиоксидативные гистидил-дипептиды, которые могут связывать переходные металлы и предупреждать заболевания и процессы старения, вызванные оксидативным стрессом. L-карнитин существует в энергетических процессах, снижает уровень холестерина и способствует поступлению в организм кальция, необходимого для укрепления костей [6].

Мясо является низкоаллергенным продуктом, причем при обработке мясного сырья (замораживание, высушивание, варка, жарение) аллергическая активность в готовых продуктах снижается.

Все эти характеристики делают нежирные виды мяса основой функционального питания, которое положительно влияет на здоровье различных категорий граждан, в том числе и с хроническими заболеваниями.

Анализ зарубежной литературы показал, что в последние годы научные разработки в области создания функциональных продуктов на мясной основе ведутся по следующим направлениям:

- органическое мясное сырье, не вызывающее аллергии;
- снижение калорийности мясных продуктов за счет замены части жира в рецептуре (инулин; растительные волокна; эмульгированный свиной коллаген и пшеничными волокнами; нутровый белковый изолят или крахмал; овощи: отварной картофель, сладкий черный корень, сельдерей и топинамбур; зернобобовые; балластные вещества; продукты из морских водорослей; масляная эмульсия и порошок лесного ореха, порошок и экстракт зеленого чая, клетчатка апельсина, цитрусовый пектин);
- модификация жирнокислотного состава мясного сырья и мясной продукции (снижение доли НЖК и увеличение доли МНЖК и ПНЖК, природных транс-изомеров, оптимизация соотношения ω-6 и ω-3 ЖК) за счет замены части животного жира на растительное (сафлоровое, рапсовое, льняное, соевое, растительное, кукурузное масла), а также морских липидов (экстракти липидов рыб, рыбий жир,); искусственная жировая ткань (плазма крови с полисахаридными добавками);
- обогащение мясного сырья и мясной продукции жирорастворимыми витаминами и минералами (йод, селен, Cu, Mg, Mn, K и др.);
- доступность биологически активных веществ в составе мяса (гидролизаты субпродуктов; биологически активные пептиды, карнозин, ансерин, L-карнитин, глютатион, креатин или таурин);
- комбинированное использование функциональных пищевых ингредиентов в ФПП (свиной коллаген+волокна пшеницы; картофель+ каррагинан; инулин+пшеничные волокна+брокколи или растительное масло+побеги брокколи; кукурузное масло +волокна из водорослей; мука из льняного семени+мука из киви; лиофилизированные петрушка, пастернак, сельдерей)
- функциональные пищевые продукты с антиоксидантным действием (ликопин, экстракти лекарственных трав, чая, кожура цитрусовых, семена кунжута, маслины, виноград);
- обогащение продуктов пробиотиками (молочно-кислые бактерии, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus rhamnosus*; *Lactobacillus paracasei*, *Lactobacillus plantarum*), пребиотиками (ксилоолигосахариды; олигосахариды и диетическая клетчатка; пептиды), симбиотиками;
- ферментированные мясные продукты длительного срока хранения (до 6 месяцев);
- продукты «чистой упаковки», снижение уровня канцерогенов в мясной продукции (замена нитри-

та натрия на овощи с редуцирующими веществами (экстракт *Puerariae radix*; замена фосфатов рисовым крахмалом и/или фрукто-олигосахаридами);

В процессе создания функциональных продуктов возникают проблемы, которые требуют изыскания новых научных подходов для их решения.

Одной из тенденций разработки продуктов здорового питания является снижение калорийности (жирности) готового продукта за счет введения овощей, зерновых и зернобобовых культур, клетчатки цитрусовых и т.д. Замена части жира приводит к ухудшению вкусовых качеств и потере нежной консистенции продуктов и вызывает необходимость широкого использования пищевых добавок (обогатителей аромата и вкуса и др.). В ФГБНУ ФНЦ пищевых систем им. В.М. Горбатова проведен анализ ингредиентов, способных заменять жировую составляющую без существенного изменения органолептических характеристик мясных продуктов и выбран инулин, как наиболее оптимальная добавка. Использование инулина в предварительно гидратированном виде для замены жировой составляющей в количестве до 50 % от содержания жировой составляющей в рецептуре, позволит сократить содержание жира на 40 % и калорийность на 30 % без ухудшения функционально-технологических свойств мяса и органолептических характеристик готовых продуктов (данные ФНЦ пищевых систем им. В.М. Горбатова).

Немецкие ученые считают, что оптимальной частичной заменой жира в целях пользы для здоровья, является комбинация растворимых (инулин) и нерастворимых (пшеничные отруби) балластных веществ. В субпродуктовой колбасе было заменено до 20 % жира на растворимый в воде инулин. Пшеничные волокна добавляются в небольшом количестве (около 1 %), из-за их негативного влияния на сенсорные ощущения [7].

Снижение органолептических характеристик готовой мясной продукции происходит и при обогащении продуктов питания биологически активными липофильными ингредиентами (ПНЖК семейств  $\omega$ -3 и  $\omega$ -6). Кроме того липофильные ингредиенты характеризуются низкой растворимостью в воде, подверженностью химическому расщеплению и нестабильностью в условиях производства и хранения. Эта проблема была решена путем инкапсулирования биологически активных жирных кислот  $\omega$ -3 в эмульсиях типа масло-в-воде. Для невелирования постороннего запаха и привкуса (от рыбьего жира) смешивали специи и антиоксиданты [8]. Результаты исследований показали, что инкапсулирование жирных кислот  $\omega$ -3 в эмульсиях типа масло-в-воде обеспечивает физическую и окислительную стабильность, но их внесение в сложные мясные матрицы может оказаться непредсказуемый эффект и повлечь за собой дестабилизацию структуры готового продукта.

Использование эмульсии вода-в масле-в воде, представляющую собой эмульсию вода-в масле, диспергированную как капли в водной фазе, которая позволяет маскировать посторонний вкус и контролировать высвобождение и защиту ингредиентов, а также снижать содержание жира, так как часть липидного материала заменяется водными частицами, диспергированными внутри неё [9]. Для производства пищевых эмульсий в качестве масляной фазы используются растительные масла (оливковое, рапсовое, соевое, кукурузное и т.д.). На стабильность двойных эмульсий оказывает влияние время хранения (минимальное отстаивание установлено в двойных эмульсиях, хранившихся в течение 10 дней при 4 °C). Экспериментальные двойные эмульсии показали стабильность к традиционной для колбас термообработке.

Успешные испытания на животных прошли капсулы с фосфолипидами *Undaria pinnatifida* /бурых морских водорослей/, которые в свою очередь содержали фукоксантин — пигмент с установленным эффектом против ожирения [10]. Однако, в обзоре по исследованию влияния диетарного жира и ожирения за 1993–2009 гг. не было установлено четкой взаимосвязи между потреблением мононенасыщенных жирных кислот или полиненасыщенных жирных кислот и потерей веса [11].

В последнее время наблюдается приверженность россиян к потреблению натуральных продуктов и продуктов с «чистой этикеткой».

Негативное отношение к мясной продукции сложилось, в том числе и, из-за использования при ее производстве нитритов, которые в процессе термообработки преобразовываются в N-нитрозамины, а также вторичные или третичные амины, обладающие канцерогенным, тератогенным и мутагенными свойствами. Поэтому, одним из направлений в функциональном питании является разработка заменителей нитритов, предназначенных в основном для сохранения характерного цвета мясопродуктов. Известны как натуральные, так и синтетические заменители нитрита, однако, до недавнего времени в переработке мяса ни одна из этих альтернатив широко не использовалась. Другой подход заключается в микробном превращении метмиоглобина ( $MbFe^3$ ) в нитрозилмиоглобин ( $MbFe^2NO$ ). Штамм *S. xylosus* может использоваться в качестве заквасок для формирования характерного колбасного цвета в модельных системах с МРС-бульоном и сырьем свиным фаршем без добавления нитрита или нитрата [12].

Создан препарат на основе штамма *Paracoccus spp*, обладающий способностью снижать содержание остаточного нитрита в готовом продукте. При этом скорость денитрификации тем выше, чем больше концентрация нитрита натрия в среде. Применение препарата позволяет четко рассчитать продолжительность его действия [13].

Снижение содержания натрия (поваренная соль) в мясных изделиях является актуальной задачей, так как доказана взаимосвязь между избыточным потреблением натрия, и развитием сердечно-сосудистых заболеваний, гипертонии и инсультов. Сокращение хлорида натрия в мясных продуктах является технически сложной задачей, поскольку требует сохранения желаемых функционально-технологических свойств: соленый вкус, увеличение растворимости мышечных белков и повышение влагосвязывающей способности, снижение роста микроорганизмов. Исследованы различные подходы к снижению натрия в пищевых продуктах, но наиболее успешным является использование заменителей поваренной соли. В качестве заменителей хлорида натрия в мясной продукции рассматриваются хлорид калия, хлорид кальция, лактат кальция и хлорид магния в различных комбинациях и дозировках [14].

Фосфаты широко используются в пищевой промышленности. Однако, из-за их способности оказывать отрицательное воздействие на здоровье людей, влияя на баланс кальция, железа и магния, повышая риск заболеваний костей и приводя к обострениям заболеваний (например, у потребителей с хроническим заболеванием почек) в последние годы специалисты пищевой отрасли нацелены на замену (частичную или полную) фосфатов. Частичная или полная замена фосфатов на рисовый крахмал и фрукто-олигосахариды приводит к снижению выхода готового продукта, обеспечивая при этом получение более полезного для здоровья продукта [15].

Функциональные пищевые ингредиенты, которые вводятся в состав продуктов, должны быть всесторонне изучены и выявлены все возможные побочные эффекты от их использования. Немецкие ученые [16] проводили исследования, в ходе которых изготавливалась вареная колбаса с функциональными свойствами, а в качестве функциональной добавки был выбран ресвератрол (3,5,4<sup>1</sup>-тригидрокси-транс/цис-стильбен). Ресвератрол является фитоэстрогеном группы полифенолов, содержится в красных сортах винограда, малине и земляных орехах и обладает антиокислительными, антиканцерогенными и противовоспалительными свойствами. Результаты исследований, ранее проведенных на животных, указывают на возможный эффект продления жизни. Данные, полученные немецкими учеными показали, что незначительное добавление ресвератрола отрицательно влияет на цвет продукта, происходит изменение вкуса: появление вкуса старого продукта. В период проведения исследований государственными учреждениями США были выпущены публикации с предупреждениями относительно применения ресвератрола и рекомендациями отказаться от его использования в качестве добавки при производстве функциональных пищевых продуктов из-за возможного стимулирующего действия

на некоторые виды злокачественных опухолей. Таким образом, рекомендовано отказаться от применения ресвератрола, вещества с потенциальным физиологическим воздействием, из-за возможных рисков воздействия на организм человека.

В Германии с целью подтверждения полезности для здоровья мясных продуктов с функциональными свойствами в первую очередь, необходимо проанализировать и проверить влияние рецептуры, технологического процесса и хранения на функциональные компоненты и сохранность их свойств в готовом продукте, а также на нежелательные вещества (например, продукты окисления жиров), для того чтобы убедиться, что содержание биологически активных веществ в готовом продукте соответствует необходимым питательно-физиологическим показателям. После этого функциональные мясопродукты с точно установленным содержанием желательных функциональных ингредиентов можно использовать в экспериментах по употреблению их в пищу человеком.

Возрастает количество патологий, обусловленных нарушением микроэкологии кишечника. В связи с чем, ученые большое внимание уделяют разработке ФПП с использованием пробиотиков. Польза от потребления пробиотика должна быть продемонстрирована только на основе результатов хорошо организованных, рандомизированных, двойных слепых исследований, контролируемых плацебо на людях, результаты которых опубликованы в международных рецензируемых научных журналах. Первое, что требуется в каждом процессе разработки пробиотических пищевых продуктов — точная идентификация и характеристика используемого пробиотического штамма на уровне рода, вида и разновидности, с использованием принятой в международном масштабе методологии. Далее следует этап исследований физиологических характеристик и технологических требований, а также раскрытие лежащих в основе механизмов действия и иллюстрация положительных эффектов на человеке [17]. Критерии отбора для пробиотиков следующие:

- выживание бактерий при прохождении через верхнюю часть желудочно-кишечного тракта;
- взаимодействие с имеющейся микрофлорой (способность временно прикрепляться к эпителию кишечника, отсутствие значительного влияния на доминирующую микрофлору; влияние на количество и разнообразие эндогенных видов *Lactobacillus* и *Bifidobacterium*);
- благотворное влияние на здоровье потребителя (предотвращение риска заболеваний);
- стойкость по отношению к проводимой технологической обработке и хранению;
- высокие характеристики безопасности (отсутствие групп риска видов П LAB, отсутствие D-молочной кислоты).

Пробиотики могут влиять на здоровье человека на трех уровнях, в зависимости от штамма: путем взаимодействия с другими микроорганизмами, находящимися на месте действия (конкуренция за питательные вещества, продуцирование ингибиторов микробов, исключение при конкуренции); путем укрепления барьеров слизистой и/или влияя на иммунную систему хозяина.

Пробиотики обычно используют при производстве ферментированных мясных продуктов, т.к. последние подвергаются слабой тепловой обработке. При подборе пробиотических штаммов необходимо учитывать негативный эффект мясной среды, которая содержит посолочные ингредиенты, низкий pH и активность воды и не ухудшать органолептические характеристики готового продукта [17]. Такие бактерии можно получить путем скрининга натуральных изолятов колбас или существующих коммерческих стартовых культур. В северных европейских странах, (потенциальные) пробиотические штаммы *L. rhamnose GG*, *L.rhamnose LC-705*, *L.rhamnose E-97800* и *L.plantarum E-98098* обладают вышеперечисленными свойствами. При применении изолятов из кишечника *L.paracasei L26* и *Bifidobacterium lactis B94* вместе с традиционной стартовой культурой, не отмечалось негативного эффекта на сенсорные свойства продукта. Использование инкапсулированных в альгинате *L. reuteri ATCC* не приводило к снижению сенсорных характеристик [17].

Специалисты научного общества «Микробиота» провели исследования по оценке выживаемости пробиотических микроорганизмов в составе 23 отечественных и зарубежных препаратов и получили доказательства того, что выживаемость этих микроорганизмов в желудочно-кишечном тракте составляет менее 0,0001% от исходной численности при первом поступлении [18]. Полученные результаты, как отмечают авторы, являются основанием для корректировки взглядов на существующий принцип заместительного действия пробиотикотерапии на основе живых микроорганизмов.

Пребиотики не имеют недостатков, свойственных пробиотикам, поскольку не являются жизнеспособными клетками и достигают толстого кишечника без изменений, являются эффективным средством профилактики и коррекции дисбиотических нарушений за счет стимуляции и метаболической активности нормальной кишечной микрофлоры. Пребиотики используют в целях улучшение технологических свойств: как наполнители, не содержащие калорий, улучшили стабильности эмульсий, для модификации текстуры и др. физиологических свойств: снижение риска диабета, благоприятное влияние на регулирование липидов крови, предотвращение сердечно-сосудистых заболеваний, рака толстой кишки, регулирования прохождения содержимого через кишечник. Хорошо известно применение олигосахаридов и диетической

клетчатки (инулин, зерновые: овес, рис, пшеница и др; бобовые: горох, соя и др.; фрукты: яблоки, лимон, апельсин; корнеплоды: морковь, свекла и др.; морские водоросли) в качестве представителей пребиотических веществ, которые используются для увеличения роста пробиотических бактерий.

Японские ученые [19] получили новые пребиотические вещества из мясного белка. Из свежей сырой обрези (окорока) был приготовлен актомиозин, который ферментировался пятью видами протеаз (папаин, фицин, трипсин, протеимназа К, проназа Е). После фракционирования переваренного актомиозина (гидролизат папаином) была выделена фракция, с активностью стимулирования роста *Bifidobacterium*. Затем были синтезированы трипептид с последовательностью Glu-Leu-Met и два вида дипептидов (Glu-Leu и Leu-Met), из которых только трипептид Glu-Leu-Met показал активность стимулирования роста *Bifidobacterium bifidum*, ни дипептиды (Glu-Leu, Leu-Met), ни аминокислоты (Glu, Leu, Met), которые являются частью трипептидов, не обладали такой способностью. Последовательность трипептида является важным фактором для активности стимулирования роста кишечной микрофлоры. Авторы заключили, что ферментативные гидролизаты мясных белков и соответствующие стимулирующие рост *Bifidobacterium* пептиды (например, Glu-Leu-Met) могут использоваться как пребиотический материал для разработки функциональных пищевых продуктов, включая функциональные мясо-продукты.

В дополнение к пробиотикам и пребиотикам была предложена концепция синбиотиков, пищевые продукты, содержащие как пробиотические бактерии, рост которых усиливается благодаря пребиотическим веществам. Совместное применение пробиотиков и пребиотиков — это одна из основных тенденций для разработки функциональных пищевых продуктов, которая широко используется для молочной продукции, однако является относительно новой концепцией в мясной промышленности.

Для повышения полноты научных знаний в области изучения и применения пробиотиков и пребиотиков организована Международная научная ассоциация пробиотиков и пребиотиков (ISAPP), которая является некоммерческой организацией, состоящей из международных специалистов, чьим намерением является разработка подходов и продуктов, которые были бы оптимальны для улучшения здоровья (<http://www.isapp.net>).

Мясо является продуктом с полезными для здоровья свойствами, т.к. в результате его потребления возможно достичь благоприятный эффект регулирования процесса ожирения, снижения риска заболевания диабетом, а также обмена веществ в костях. Мясной белок, кроме питательной ценности, обладает биоактивными свойствами, проявляемыми высвободившимися под

действием протеолитических ферментов пептидами. Особенность биоактивных пептидов заключается в том, что в составе белков они находятся в латентном (спящем) состоянии и высвобождаются под воздействием протеолитических ферментов (мышечных, микробиальных, пищеварительных) и различных технологических приемов обработки.

Установлено, что биологически активные пептиды (БАП), выделенные из мясного сырья обладают: антигипертензивной, антиокислительной, иммуномодулирующей, антитромболитической, антимикробной, гипохолестеролимической и пребиотической активностью.

Например, ангиотензины (представленные октапептидами), оказывающие выраженное сосудосуживающее действие, образуются из присутствующего в сыворотке крови неактивного белка ангиотензиногена в результате последовательного действия ряда протеолитических ферментов. БАП, способствующие формированию или коррекции функциональных характеристик тканей, выделены из мясного сырья [20]. Преимущество мясного сырья как источника биоактивных пептидов состоит в том, что послеубойное созревание приводит к высвобождению тканевых ферментов, которые, в свою очередь, атакуют белки мяса с образованием пептидов. Автор сообщал о наблюдаемом увеличении антигипертензивной (ACE-ангидротензивный I-конвертирующий фермент) активности говядины, т.е., ингибитора ACE, в период послеубойного созревания под действием катепсинов и кальпаинов. Таким образом, ингибитор ACE способен подавлять рост кровяного давления, ингибируя каталитическую активность ACE.

Обработанные органы и ткани продуктивных животных, которые содержат тканеспецифические белки и пептиды являются функциональными ингредиентами для производства функциональных мясных продуктов с гиполипидемическим и антиатеросклеротическим действием. Изучали влияние аорт и сердечной ткани, полученных от крупного рогатого скота и свиней и введенных в рацион крыс на атеросклеротические расстройства. Результаты исследований на лабораторных животных продемонстрировали положительный эффект, основанный на изменении липидного обмена и снижения воспаления, связанные с атеросклерозом [21].

БАП образуются и в сырокопченых и сыровяленых мясных продуктах под действием мышечных протеаз, активность которых возрастает в процессе естественной ферментации в присутствии молочнокислых бактерий. Содержание БАП в результате ферментации может возрасти до 1%. При этом, по данным ряда исследователей, образующиеся в сырокопченых и сыровяленых мясных продуктах БАП обладают антигипертензивной активностью, при этом ингибиторная активность по отношению к ACE у ферментированных мясных продуктах выше, нежели у неферментирован-

ных [22]. Ферментативная тендеризация мясного сырья — это еще один способ обогащения продукта БАП.

Коллагеновые пептиды могут использоваться в качестве источника коллагена, увеличивая количество свободных фибробластов и улучшая эластичность сосудов. Двойное слепое плацебо-контролируемое исследование подтвердило увеличение содержания влаги в коже в результате применения коллагеновых пептидов [2].

Мясные субпродукты могут использоваться в качестве сырья для получения ингредиентов для рынка функциональных продуктов питания, являющегося одним из наиболее успешных направлений в пищевой промышленности [23,24].

Пептиды, полученные из мяса и мясных субпродуктов, обладают широким спектром полезных для здоровья свойств:

- Антикоагулянтные пептиды (казеин коровьего молока после ферментации с помощью *Lactobacillus casei*; из свинины гидролизованной папаином);
- Пептиды для психического здоровья (опиоидные пептиды из гидролизатов крови, из говяжьего гемоглобина посредством гидролиза пепсином; геморфины и геморфин-подобные пептиды из мозга овец; РЕР-ингибирующие пептиды из мозга крупного рогатого скота).
- Антиоксидантные пептиды (карнозин и анзерин; обработанных протеазами свиных миофибрillлярных белков; из говяжьей грудинки путем ферментативного гидролиза с помощью папаина; 27 пептида, естественным образом присутствующих в испанской сухой ветчине; из водного экстракта рогов азиатского буйвола; из свиного гемоглобина при высоких температурах и низких давлениях в потоке азота).
- Антимикробные пептиды (из говяжьего гемоглобина путем гидролиза пепсином; гидролизат гемоглобина, полученном с помощью свиного пепсина; из центральной части говяжьего а-гемоглобина; из белков говяжьей саркоплазмы).

Интересное направление в создании ФПП предложили Л.Г. Энгсиг и его коллеги (2013). Они представили полезные мясные продукты (тонкоизмельченные) в виде мясных спредов и снеков, состоящих из 40 % свинины, калифорнийского ореха, моркови и гороха. Разработанные продукты могут использоваться и как соус или как спред для сэндвичей. Продукты имеют низкое содержание жира 0,7–3,8 %, низкий уровень соли (1,1%) и белка между 11,3–14,8 % [25].

Функциональными продуктами являются продукты как полезные от природы (натуральные функциональные пищевые продукты), так и усовершенствованные (модифицированные) человеком.

## Заключение

Функциональные продукты — новое поколение пищевых продуктов, широкий ассортимент которых позволит потребителю оптимизировать раци-

он питания за счет сбалансированных нутриентов и предоставит реальные возможности снизить риски нутриентной недостаточности организма, улучшить физическое здоровье и отодвинуть наступление хронических неинфекционных заболеваний и старение организма. Для дальнейшего развития отечественной индустрии функционального питания необходимо интенсифицировать исследования, направленные

на изучение механизмов и получение новых знаний о способах придания пищевым продуктам функциональных и специальных свойств, а также условиях сохранения этих свойств в течение срока годности и изучение терапевтического эффекта биологически активных добавок (витаминов, минеральных и др. веществ), а также других нутриентов и их совместимости.

## Introduction

The composition of modern foods has undergone great changes over the last years and includes large amounts of food additives, which on one hand improve taste, technological, functional properties of the final product, and on the other hand increase the risks of developing different diseases upon the long-term intake by humans.

There is the high level of falsified products, in which high-cost raw materials are replaced by cheaper analogues with additional incorporation of food additives. This is especially relevant to the most demanded segment in the sales market — foods produced by GOST.

Each food additive undergoes a compulsory testing for safety. However, there is often a lack of complex investigations of compounds, which are formed in a product as a result of technological processing of raw materials and a complex of incorporated food additives, as well as their effect on the physiological functions of the body.

According to different data, the average person eats 2 to 9 kg of food additives annually. The majority of them are artificial. Some are banned in Russia. Many of food additives allowed in our country have been the subject of heated debate among health care professionals and dietitians in terms of the risk of their consumption (the data from the report of the doctor of medical sciences V.N. Sergeev/FGBU «National Medical Research Center for Rehabilitation and Health Resort Study of the Ministry of Health of the Russian Federation» at the 1<sup>st</sup> scientific practical conference «Functional foods: scientific principles of development, production and consumption»).

Another reason for nutrient deficiency is consumption of large amounts of medicines (chronic diseases, including gastrointestinal tract, periods of the ARVI and flu, and so on) by all categories of the citizens, which in many cases lead to a deficiency of several nutrients that are consumed with foods and to emergence of chronic non-communicable pathologies and premature ageing.

The situation has been formed, which requires a search for new directions and creation of modern technologies of healthy foods that allow preservation of nutrients of the initial raw materials, the use of the minimally necessary range of food additives and the return of the consumer trust including in the meat sector of the domestic market.

Functional nutrition can be a way out of the existing situation. Nowadays, the food industry pays much atten-

tion to this direction. Functional foods (FF) are intended for general consumption by all categories of citizens; however, they are different from ordinary products in terms of their additional health benefits, which are guaranteed by the strict requirements of the state, their facilitation of the disease prophylaxis, health strengthening and an increase in the life longevity.

In Japan, these products are called FOSHU (Foods for specific health use). Dairy, sour-milk and cereal functional foods have long been studied, acknowledged and are popular among consumers. The market of meat functional foods is little-known to the domestic consumers, who are not informationally prepared, and meat and meat products are not associated with functional products due to the recent media frenzy.

The aim of the research is an analysis of the functional meat-based food market and systematization of the world trends in the development of scientific research in the field of designing meat functional foods.

## Main part

According to the international analysis of the trends in the market of functional food consumption carried out by Georg Morris Centre, production of their certain types increases by 5–40% annually (the data of the doctor of medical sciences V.N. Sergeev/FGBU National Medical Research Center for Rehabilitation and Health Resort Study of the Ministry of Health of the Russian Federation»).

The growth rates of the world industry of healthy nutrition are not lower than the rates of the food industry development. Japan accounts for 39.2% of the world share of the functional food market, USA for 31.1%, five European countries (Spain, Italy, Germany, France and Great Britain) for up to 28.1%. The world market of functional foods is dominated by bakery and dairy products making up 72.9% [1]. However, it is not quite correct to compare the volumes of functional foods produced in different world countries because of the different criteria, according to which a product is classified as functional. For example, in Japan, in contrast to other world countries, food products in a form of capsules and tablets, as well as some in other forms are assigned to functional foods.

In Japan, which is a trend setter of functional foods, more than 45% of the total amount of functional foods (Food for Specific Health Use, FOSHU) are placed into the category of supporting normal functioning of the gastro-

intestinal tract. Oligosaccharides, lactic acid bacteria and bifidobacteria as well as dietary fibers are the main active ingredients in this category. The gastrointestinal category is followed by the products (21%) that positively affect people with the high level of cholesterol/triglycerides in the blood serum. It consists of products, which composition includes soy proteins, peptides, dietary fibers, diacylglycerol and plant sterol/stanol [2].

Some products that are historically used in the national cuisines are functional. In Japan, they are products from soybeans: miso, soy sauce and natto. Natto from fermented soybeans contains vitamin K<sub>2</sub> (menaquinone-7), which facilitates the transport of calcium to the bones, and soy protein is an active ingredient, which is able to control the cholesterol level in the blood serum. Katsuobushi, or dried skipjack tuna, is a traditional Japanese dish, which composition includes peptides that are able to reduce blood pressure. This fact was confirmed by the research, and it was allowed to use a claim «positively affects humans with relatively high blood pressure» for this product. All above-mentioned products are approved FOSHU products.

The Japanese government financed the studies on the physiological effect of different foods and their components regarding the so-called 'tertiary' properties of foods, which are directly involved in regulation of the activity of the human physiological systems, such as immune, endocrine, nervous, circulatory, and digestive systems ('primary' and 'secondary' properties are related to nutritional and sensory values). The results of the studies allowed finding criteria, according to which foods are assigned to functional [2].

According to the data of Euromonitor International (2013), in the USA, functional foods are classified by the following categories depending on their functional properties (in descending order of sales in 2012):

- overall health;
- weight management;
- health of digestive system;
- increase in the energy level;
- stamina;
- health of oral cavity;

- health of bones and blood vessels;
- food intolerance.

Among the European countries, Germany has the largest volume of the functional food market. According to the data of the Union of German meat industry (Frankfurt am Main), 500 meat processing enterprises in Germany produce exclusively bio-products, due to which many enterprises extent their traditional assortment of sausages and meat products.

In production of bio-products, the use of the synthetic colorants, taste enhancers, preserving agents, artificial and nature-identical flavoring substances, and stabilizing agents is excluded. According to the population survey concerning consumer trust, bio-meat and bio-products occupy the first place.

For example, the German company Börner-Eisenacher from Göttingen concentrated its efforts on the new assortment under the brand «Biofrisch» as well as on the extended range of wellness products (products beneficial for health), which retain the traditional ways of production, but are oriented on the modern consumer. The fat content in a product was reduced due to low-fat raw materials (ham) on one hand, and the fat replacer, inulin, on the other hand. These are salami with 17 % of fat, pates from ham and poultry meat (5 % of fat), sausage for frying with reduced fat and products for grill (9 % of fat in each), as well as spreadable sausage products including finely dispersed liver sausage, liver sausages with apples and onions, coarse liver sausage with broad-leaved garlic, spreadable sausages «Teewurst» and «Mettwurst» (14 % of fat) [3].

In Russia, the volume of the healthy nutrition products accounted for 874,095 mln. rubles in 2016; in 2017, this indicator was equal to 878,690 rubles. According to the forecasts, the domestic food industry will produce healthy nutrition products amounting to 912,477 mln. rubles in 2021 (Discovery Research Group, 2017 <http://www.sitebs.ru/blogs/34288.html>).

The Russian consumers are ready to buy products with additional health benefits (Figure 1) and pay higher price. This is confirmed by the results of the population surveys within the framework of the analysis of the functional food market [4].

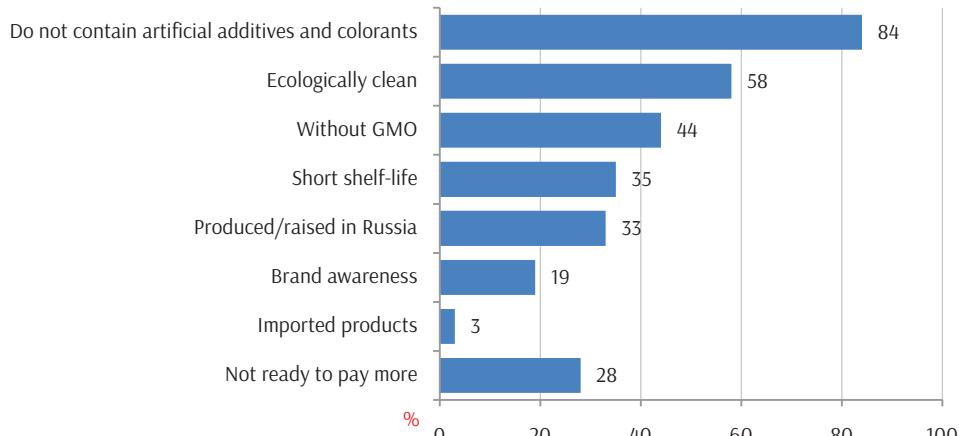


Fig. 1. Product characteristics, for which consumers are ready to pay more, percent of the respondent number

Among the criteria for choosing food products, 81% of the respondents indicated the product composition, 69% product price, 33% country of production and 22% product brand [4].

At present, product quality and its composition are the main criteria for a choice by a domestic consumer, who reads a label and is ready to buy more ecologically clean products with higher price. With that, consumers become more attentive to what they consume and this attitude changes depending on the level of education, social position, well-being, age and family status.

Analysis and assessment of the factors for changes in nutrition in the world showed that there is no direct relationship between meat consumption and a consumer income as was believed earlier [5].

Unfortunately, production of domestic functional foods have not entered the Federal scale: they are produced, mainly, in individual enterprises, which work with research centers — developers of functional foods.

The functional food market in Russia has not reached 5% of the total volume of food production. The dynamics of the production volumes of these products in Russia increases at low rates.

In the Russian market, functional foods are presented largely by four groups: cereal-based products (porridges, flakes), including bakery and confectionary products; non-alcoholic beverages; dairy products; products of the oil and fat industry. Products of the other sub-sectors of the food industry are presented in the insignificant amount. Functional food production increased from 2007 to 2013 by 160% [1].

Meat-based functional foods are presented in the food market in smaller amounts because of the complexity of production (long-term high temperature processing) and the methods of preservation of biologically active components in the final products.

Meat raw materials are a source of full-value protein and can be classified as a natural functional food product. Meat has the balanced amino acid composition, all essential amino acids including tryptophan, lysine and methionine, high levels of minerals (iron, phosphorus, zinc, copper, chromium, selenium, fluorine, potassium, sulfur), including essential, and B group vitamins, as well as the high nutritional and biological value. With that, availability of certain nutrients of animal origin is higher than that of plant origin.

Beef is a natural source of conjugated linoleic acid, which showed itself to be an antioxidant, anti-carcinogen and stimulator of the immune system.

Carnosine and anserine contained in meat are anti-oxidative histidyl dipeptides, which can bind transition metals and prevent diseases and ageing processes caused by the oxidative stress. L-carnitine takes part in energy processes, reduces the cholesterol level and facilitates calcium intake, which is necessary for bone strengthening [6].

Meat is a low allergic product and the allergic activity decreases in the final products upon meat raw material processing (freezing, drying, cooking, frying).

All these characteristics make lean meat types a basis for functional nutrition, which positively affects the health of different categories of citizens, including those with chronic diseases.

Analysis of foreign literature shows that recently the scientific developments in the field of designing meat-based functional foods have been carried out by the following directions:

- Organic meat raw materials that do not cause allergy;
- Reduction of meat product caloricity, due to partial fat replacement in a recipe (inulin; plant fibers; emulsified pork collagen and wheat fibers; chickpea protein isolate or starch; vegetables: boiled potato, Spanish salsify, celery and Jerusalem artichoke; leguminous; dietary fiber, products from seaweed; oil emulsion and powder of hazel; powder and extract of green tea; orange fiber; citrus pectin);
- Modification of the fatty acid composition of meat raw materials and meat products (a reduction in the proportion of saturated fatty acids and an increase in the proportion of the monounsaturated fatty acids and polyunsaturated fatty acids, natural trans-isomers, optimization of the ratio of  $\omega$ -6 and  $\omega$ -3 fatty acids) due to partial replacement of animal fat with vegetable oils (safflower, rapeseed, linseed, soybean, sunflower and corn oils) as well as marine lipids (extracts of fish lipids, fish oil); artificial fat tissue (blood plasma with polysaccharide additives);
- Enrichment of meat raw materials and meat products with fat soluble vitamins and minerals (iodine, selenium, Cu, Mg, Mn, K and others);
- Availability of biologically active substances in the meat composition (by-product hydrolysates, biologically active peptides, carnosine, anserine, L-carnitine, glutathione, creatine or taurine);
- Combined use of functional food ingredients in functional foods (pork collagen + wheat fibers; potato + carageenan; inulin + wheat fibers + broccoli or vegetable oil + broccoli sprouts; corn oil + seaweed fibers; linseed flour + kiwi flour; lyophilized parsley, parsnip, celery);
- Functional foods with the antioxidant activity (lycopen, extracts of medicinal herbs, tea, citrus peel, sesame seeds, olives, grapefruit);
- Enrichment of products with probiotics (lactic acid bacteria *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus rhamnosus*; *Lactobacillus paracasei*, *Lactobacillus plantarum*), prebiotics (xylooligosaccharides, oligosaccharides and dietary fiber, peptides), symbiotics;
- fermented meat products with long shelf-life (up to 6 months);
- «clean label» products, reduction in the level of carcinogens in meat products (replacement of sodium nitrite

with vegetables having reducing substances/extract of *Puerariae radix*; replacement of phosphates with rice starch and/or fructo-oligosaccharides).

In the process of functional food development, several problems arise that require finding new scientific approaches for their solution.

One of the trends in the development of healthy nutrition products is a decrease in the calorie content (fat content) of the final product due to addition of vegetables, cereals and leguminous crops, citrus fiber and so on. Partial replacement of fat leads to deterioration of palatability and loss of product tender consistency, and cause a necessity of the wide use of food additives (flavor enhancers and so on). The V.M. Gorbatov Federal Research Center for Food Systems of Russian Academy of Sciences carried out analysis of ingredients that can replace the fat constituent without significant changes in the organoleptic characteristics of meat products and chose inulin as the most optimal additive. The use of inulin in the preliminarily hydrated form to replace the fat constituent in an amount of up to 50% of the fat constituent content in the recipe will allow fat reduction by 40% and caloricity by 30% without deterioration of the functional and technological properties of meat and organoleptic characteristics of the final products (the data of the V.M. Gorbatov Research Center for Food Systems).

The German scientists suggest that the optimal partial fat replacement for health benefits is a combination of soluble (inulin) and insoluble (wheat brans) dietary fibers. In the sausage made from edible by-products, 20% of fat was replaced with water soluble inulin. Wheat fibers are added in small quantities (about 1%) because of their negative effect on sensory indicators [7].

Deterioration of the organoleptic characteristics also occurs in the final meat products upon their enrichment with biologically active lipophilic ingredients (PUFA of  $\omega$ -3 and  $\omega$ -6 families). In addition, lipophilic ingredients are characterized with low solubility in water, susceptibility to chemical disintegration and instability in the conditions of the production and storage. This problem was solved by encapsulation of biologically active  $\omega$ -3 fatty acids in oil-in-water type emulsions. To level the off-flavor (from fish oil), spices and antioxidants were mixed [8]. The results of the investigation showed that encapsulation of  $\omega$ -3 fatty acids in the oil-in-water type emulsions ensured physical and oxidative stability; however, their addition into the complex meat matrix can have an unpredictable effect and lead to destabilization of the final product structure.

The use of the water-in-oil-in-water emulsion, which is the water-in-oil emulsion dispersed as drops in the water phase, allows masking off-taste and control the release and protection of ingredients, as well as reducing the fat content since part of the lipid material is replaced by water particles dispersed inside it [9]. As an oil phase, vegetable oils (olive, rapeseed, soybean, corn and others) are used for production of food emulsions. The stability of double

emulsions is influenced by storage duration (minimal settling was found in double emulsions stored for 10 days at 4°C). The experimental double emulsions showed stability to traditional thermal treatment of sausages.

Tests on animals were successfully passed by the capsules with phospholipids *Undaria pinnatifida* /brown seaweed/, which, in turn, contained fucoxanthin — a pigment with the established anti-obesity effect [10]. However, the clear relationship between consumption of monounsaturated or polyunsaturated fatty acids and weight loss was not established in the review on the study of the effect of dietary fat and obesity in 1993–2009 [11].

At present, the adherence of the Russian consumers to natural products and «clear label» products is observed.

The negative attitude to meat products has been also formed due to the use of nitrites in their production, which in the process of thermal processing are transformed to N-nitrosamines, as well as secondary and tertiary amines with carcinogenic, teratogenic and mutagenic properties. Therefore, one of the directions in the functional nutrition is the development of nitrite replacers that are mainly intended for preservation of the characteristic meat product color. Both natural and synthetic nitrite replacers are known; however, until recently, none of these alternatives was widely used in meat processing. Another approach consists in the microbial transformation of metmyoglobin ( $MbFe^3$ ) into nitrosylmyoglobin ( $MbFe^2NO$ ). *S. xylosus* strain can be used as a starter culture for formation of the characteristic sausage color in the model meat systems with MRS broth and raw minced pork without addition of nitrite or nitrate [12].

The preparation based on *Paracoccus spp.* strain with the ability to reduce the residual nitrite content in the final product was developed. With that, the rate of denitrification is higher when the concentration of sodium nitrite in the environment is higher. The use of the preparation allows precise calculation of the duration of its action [13].

A decrease in the sodium content (table salt) in meat products is a topical task, as the relationship between the excessive sodium content and the development of cardiovascular diseases, hypertension and strokes was proved. A reduction of sodium chloride in meat products is a technically difficult task, as it requires preservation of the desired functional and technological properties: salty taste, an increase in the muscle protein solubility and in moisture binding capacity, a reduction of the microbial growth. Different approaches to lowering sodium in foods were studied, but the most successful is the use of table salt replacers. Potassium chloride, calcium chloride, calcium lactate and magnesium chloride in different combinations and dosages are regarded as sodium chloride replacers in the meat industry [14].

Phosphates are widely used in the food industry. However, recently, the specialists of the food industry have set a task to replace phosphates partially or fully because of their ability to negatively affect human health influencing

calcium, iron and magnesium balance, increasing the risk of bone diseases and leading to ingravescence of diseases (for example, in consumers with chronic kidney diseases). Partial or full replacement of phosphates with rice starch and fructooligosaccharides leads to a reduction in the final product yield ensuring at the same time production of a healthier product [15].

Functional food ingredients that are incorporated into the product composition have to be thoroughly studied, and all possible side effects of their use have to be revealed. German scientists [16] carried out investigations, in which cooked sausage having functional properties was produced with resveratrol (3,5,4'-trihydroxy-trans-stilbene) as a functional additive. Resveratrol is a phytoestrogen from the group of polyphenols; it is contained in the red varieties of grapes, raspberry and peanuts, and has the antioxidant, anti-carcinogenic and anti-inflammatory properties. The results of the investigations carried out previously on animals, show a possible effect on increasing life expectancy. The data obtained by the German scientists show that an insignificant addition of resveratrol negatively affects the product color, the changes in taste occur: a taste of an old product appears. During the research of the US state institutions, the publications were issued that contained the warnings regarding the use of resveratrol and recommendations to stop using it as an additive in production of functional foods due to the possible stimulating action on several types of malignant tumors. Therefore, it is recommended not to use resveratrol, a substance with the potential physiological impact because of the possible risks for human health.

In Germany, to confirm the health effects of meat products with the functional properties, first of all, it is necessary to analyze and test an effect of a recipe, technological process and storage on functional components and preservation of their properties in the final product, as well as on undesirable substances (for example, products of fat oxidation) to assure that the content of the biologically active substances in the final product corresponds to the necessary nutritional and physiological indicators. After that, functional meat products with the precisely established content of desirable functional ingredients can be used in experiments on their use in human nutrition.

A number of pathologies that are conditioned by the disturbance of the gut microecology are increasing. In this connection, scientists pay much attention to the development of functional foods with the use of probiotics. The benefit of the consumption of probiotics has to be demonstrated only by the results of the properly organized, randomized, double blind, placebo controlled human studies, which results are published in international peer-reviewed scientific journals. The first thing that is required in each process of probiotic food development is precise identification and characterization of the used probiotic strain at the level of genus, species and strain with the use of the methodology accepted on the international scale. Then,

the stage of the investigations of the physiological characteristics and technological requirements follows, as well as revelation of the underlying mechanisms of action and illustration of the positive effects on humans [17]. Criteria for selection of probiotics are the following:

- Survival of bacteria during the transit through the upper gastrointestinal tract;
- Interaction with the resident microflora (ability to temporarily adhere to the intestinal epithelium and colonize the colon, an absence of the significant effect on the dominant microflora; an effect on the quantity and diversity of the endogenous species of *Lactobacillus* and *Bifidobacterium*);
- Beneficial effect on consumers (prevention of the risks of diseases);
- Resistance to technological processing and storage;
- High safety characteristics (absence of risk group II LAB species, absence of D-lactic acid).

Probiotics can affect human health on three levels depending on the strain: by interaction with other existing microorganisms (competition for nutrients, production of microbial inhibitors, competitive exclusion); by strengthening mucosal barriers and/or by affecting the immune system of the host.

Probiotics are usually applied in production of fermented meat products, as the latter undergone mild thermal processing. When selecting probiotic strains, it is necessary to take into consideration the negative impact of the meat environment, which contains curing ingredients, has low pH and water activity; in addition, organoleptic characteristics of the final product should not be deteriorated [17]. These bacteria can be obtained by screening of natural sausage isolates or available commercial starter cultures. Analysis of the northern European sausages, demonstrated that the (potential) probiotic strains *L. rhamnosi* GG, *L. rhamnosi* LC-705, *L. rhamnosi* E-97800 and *L. plantarum* E-98098 had the above-mentioned properties. When using the intestinal isolates *L. paracasei* L26 and *Bifidobacterium lactis* B94 in combination with the traditional starter culture, the negative effects on product sensory properties were not observed. The use of *L. reuteri* ATCC encapsulated in alginate did not lead to deterioration of the sensory characteristics [17].

Specialists of the scientific society «Microbiota» carried out a study on assessment of survival of probiotic microorganisms in the composition of 23 domestic and foreign preparations, and found the evidence of the fact that survival of these microorganisms in the gastrointestinal tract was less than 0.0001% of the initial number upon peroral administration [18]. As authors noted, the obtained results are a basis for correction of the views on the existing principle of the replacement effect of the probiotic therapy based on living microorganisms.

Prebiotics do not have disadvantages that are intrinsic for probiotics, as they are not viable cells and reach large intestine without changes; they are effective means of pro-

phylaxis and correction of the dysbiotic disturbance due to stimulation and metabolic activity of the normal gut microflora. Prebiotics are used to improve technological properties: as fillers that do not contain calories, enhancers of the emulsion stability, for texture modification and so on, as well as physiological properties: a decrease in the risk of diabetes, the beneficial effect on the regulation of blood lipids, prevention of cardiovascular diseases, colon cancer, regulation of colonic transit. It is well known that oligosaccharides and dietary fiber (inulin, grains: oat, rice, wheat and others; legumes: pea, soybeans and others; fruit: apples, lemon, orange; root vegetables: carrots, beets and others; seaweeds) are applied as representatives of the prebiotic substances, which are used to increase the growth of probiotic bacteria.

The Japanese scientists [19] obtained new prebiotic substances from meat protein. From fresh raw trimmings (ham), actomyosin was prepared, which was fermented with five types of proteases (papain, ficin, trypsin, proteinase K, pronase E). After fractionation of the digested actomyosin (the papain hydrolysate), a fraction was isolated with the activity of growth stimulation of *Bifidobacterium*. Then, tripeptide with the sequence Glu-Leu-Met and two types of dipeptides (Glu-Leu and Leu-Met) were synthesized, of which only tripeptide Glu-Leu-Met showed an activity of growth stimulation of *Bifidobacterium bifidum*; neither dipeptides (Glu-Leu, Leu-Met), nor amino acids (Glu, Leu, Met), which are the parts of tripeptides, did not have this ability. The tripeptide sequence is an important factor for the activity of the growth stimulation of the gut microflora. The authors concluded that fermentative hydrolysates of meat proteins and the corresponding peptides stimulating the growth of *Bifidobacterium* (Glu-Leu-Met) can be used as prebiotic material for the development of functional foods, including functional meat products.

In addition to probiotics and prebiotics, the concept of synbiotics was proposed. Synbiotics are food ingredients that contain probiotic bacteria, which growth is enhanced due to the prebiotic substances. The combined use of probiotics and prebiotics is one of the main trends in the development of functional foods, which is widely used for dairy products but is a relatively new concept in the meat industry.

To increase the scope of scientific knowledge in the field of the study and use of probiotics and prebiotics, the International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics (ISAPP) was organized, which is a non-commercial organization consisting of the international specialists, whose intention is to develop approaches and products that would be optimal for health improvement (<http://www.isapp.net>).

Meat is a product with healthy properties since its consumption allows achieving the beneficial effect in terms of the regulation of the obesity process, bone metabolism and a decrease in the risk of developing diabetes. Meat protein, in addition to its nutritional value, has the bioactive prop-

erties that are manifested by peptides released under the effect of proteolytic enzymes. The characteristic feature of bioactive peptides is that they are in the latent («sleeping») state and are released under the effect of proteolytic enzymes (muscular, microbial, digestive) and different technological means of processing.

It was established that biologically active peptides (BAPs) extracted from meat raw materials have the antihypertensive, antioxidative, immunomodulatory, antithrombotic, antimicrobial, hypocholesterolemic and prebiotic activities.

For example, angiotensins (presented by octapeptides) with the pronounced vasoconstrictive action are formed from inactive protein angiotensinogen, which exists in the blood serum, by the consecutive action of several proteolytic enzymes. BAPs that facilitate formation or correction of tissue functional characteristics are isolated from meat raw materials [20]. The advantage of meat raw materials as a source of bioactive peptides consists in the fact that post mortem ageing leads to the release of tissue enzymes, which, in turn, attack meat proteins with formation of peptides. The author reported about the observed increase in the antihypertensive (ACE- angiotensin I — converting enzyme) activity of beef, that is, ACE inhibitor, during post mortem ageing under the impact of cathepsins and calpains. Therefore, the ACE inhibitor can suppress an increase in blood pressure inhibiting the catalytic activity of ACE.

Treated organs and tissues of productive animals, which contain tissue-specific proteins and peptides are functional ingredients for production of functional meat products with the hypolipidemic and anti-atherosclerotic activities. The bovine and porcine aortic and cardiac tissues introduced into the diet of rats were studied in terms of their effect on the atherosclerotic disorders. The results of the investigations on the laboratory animals demonstrated the positive effect based on changes in the lipid metabolism and a decrease in inflammation associated with atherosclerosis [21].

BAPs are formed both in uncooked smoked and uncooked air-dried meat products under the effect of muscular proteases, which activity increases in the process of natural fermentation in the presence of lactic acid bacteria. The BAP content as a result of fermentation can increase up to 1%. According to several researchers, the BAPs formed in uncooked smoked and uncooked air-dried meat products have the antihypertensive activity; with that, the inhibitory activity regarding ACE is higher in fermented meat products compared to non-fermented [22]. The fermentative tenderization of meat raw materials is another method for product enrichment with BAPs.

The collagen peptides can be used as a collagen source increasing the quantity of free fibroblasts and improving elasticity of the blood vessels. The double-blind placebo-controlled study confirmed an increase in the moisture content in skin as a result of the use of the collagen peptides [2].

Meat by-products can be used as raw materials for producing ingredients for the functional food market, which is one of the most successful directions in the food industry [23,24].

Peptides obtained from meat and meat by-products have a wide spectrum of healthy properties:

- Anticoagulant peptides (of cow casein by fermentation with *Lactobacillus casei*; pork hydrolyzed with papain);
- Peptides for mental health (opioid peptides from blood hydrolysates, beef hemoglobin by hydrolysis with pepsin, hemorphin and hemorphin-like peptides from sheep brain; PEP-inhibiting peptides from cattle brain).
- Antioxidative peptides (carnosine and anserine, treated with proteases of pork myofibrillar proteins; from beef brisket by fermentative hydrolysis with papain; 27 peptides that naturally occur in the Spanish dry ham; from aqueous extract of horns of Asian buffalo; from pork hemoglobin at high temperatures and low pressure in the nitrogen flow).
- Antimicrobial peptides (from beef hemoglobin by hydrolysis with pepsin; hemoglobin hydrolysate obtained with pork pepsin; from the central part of beef  $\alpha$ -hemoglobin; from proteins of beef sarcoplasm).

An interesting direction in the development of functional foods was proposed by L.G. Engsig et al. (2013). They presented healthy meat products (finely comminuted) in

the form of spreads and snacks, which consisted of 40 % pork, California black nut, carrot and pea. The developed products can be used both as a sauce and spread for sandwiches. The products have low fat content (0.7–3.8 %), low salt (1.1 %) and protein (11.3–14.8 %) level [25].

The functional foods are foods both healthy from the nature (natural functional foods) and improved (modified) by humans.

### Conclusion

Functional foods are a new generation of foods, which wide assortment will allow consumers to optimize their diet due to balanced nutrients and provide real opportunities to reduce the risks of the nutrient deficiency of the organism, improve physical health and delay the onset of chronic non-communicable diseases and organism ageing. For the further development of the domestic industry of functional nutrition, it is necessary to intensify research aimed at the study of the mechanisms and acquisition of new knowledge about the means of imparting functional and special properties to foods, the conditions for preservation of these properties during the shelf-life and the study of the therapeutic effect of biologically active additives (vitamins, minerals and other substances), as well as other nutrients and their compatibility.

## БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Лыгина, Н.И., Рудакова, О.В., Соболева, Ю.П. (2014). Экономические факторы развития рынка функциональных пищевых продуктов. *Социально-экономические явления и процессы*, 9(11), 115–121.
2. Obama, H., Ikeda, H., Moriyama, H. (2006). Health foods and foods with health claims in Japan. *Toxicology*, 221(1), 95–111.
3. Mit neuen Angeboten am Markt. Börner-Eisenacher setzt auf Wellness- und Bio-Fleischprodukte (2006). *Fleischwirtschaft*, 86(11), 72–73.
4. Обзор российского рынка ингредиентов для здорового питания. [Электронный ресурс: <http://www.foodmarket.spb.ru/current.php?article=1888>. Дата обращения 01.03.2018]
5. Mathijs, E. (2015). Exploring future patterns of meat consumption. *Meat Science*, 109, 112–116.
6. Münch, S. (2006). Strategien zur Entwicklung neuer funktioneller Fleischerezeugnisse. *Meat Science*, 74, 219–229.
7. Münch, S., Müller, W-D., Nitsch, P., Kröcker, L., Troeger, K. (2007). Funktionelle Fleischerzeugnisse. *Forschungsreport*, 1, 24–26.
8. Salminen, H., Herrmann, K., Weiss, J. (2010). Oil-in-water emulsions as a delivery system for  $\omega$ -3 fatty acids in pork sausages. *Proceedings of the 56th International Congress of Meat Science and Technology Jeju, Korea*, D019.
9. Bou, R., Cofrades, S., Jiménez-Colmenero F. (2013). Properties of w1/o/w2 emulsions as potential fat replacers in meat products. *Proceedings of the 59th International Congress of Meat Science and Technology, Turkey*, S11B-7.
10. Trigueros, L., Peña, S., Ugidos, A.V., Sayas-Barberá, E., Pérez-Álvarez, J.A., Sendra, E. (2013). Food Ingredients as Anti-Obesity Agents: A Review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 53(9), 929–942.
11. Melanson, E.L., Astrup, A., Donahoo, W.T. (2009). The relationship between dietary fat and fatty acid intake and body weight, diabetes, and the metabolic syndrome. *Annals of Nutrition and Metabolism*, 55(103), 229–243.
12. Kong, B., Li, P., Zheng, D., Chen, Q. (2012). Nitrosylmyoglobin formation in raw pork batters without nitrite addition: role of *Staphylococcus xylosus* fermentation. *Proceedings of the 58th International Congress of Meat Science and Technology, Canada*, L-1.
13. Костенко, Ю.Г., Минаев, М.Ю., Солодовникова, Г.И., Саймленко, В.А., Сафоненко, Л.В., Марченко, Н.М., Куделич, А.В. (2004). Использование денитрифицирующих микроорганизмов при производстве сырокопченых и сыровяленых мясных продуктов. *Мясная индустрия*, 9, 33–35.
14. Туниева, Е.К. (2016). Изучение возможности использования солей калия, кальция и магния взамен хлорида натрия для мясной продукции. *Все о мясе*, 2, 34–36.
15. Resconi, V.C., Keenan, D.F., Gough, S., Doran, L., Allen, P., Kerry, J.P., Hamil R.M. (2013). Starch and fibre in whole-muscle cooked ham: yield, microstructure and sensory discrimination. *Proceedings of the 59th International Congress of Meat Science and Technology, Turkey*, 037.
16. Nitsch P. (2006). Funktionelle Fleischerzeugnisse-Brüh-und Kochwürste Strategien zur Entwicklung neuer funktioneller Fleischerezeugnisse. *Kulmbach* 173, 181–184.
17. Luc De Vuyst, Gwen Falony, Frédéric Leroy. (2008). Probiotics in fermented sausages. *Meat Science*, 80(1), 75–78.
18. Чичерин И.Ю., Погорельский И.П., Лундовских И.А., Дамов И.В., Шабалина М.Р., Подволовский А.С. (2016). Сравнительная экспериментальная оценка эффективности современных пробиотиков, пребиотиков, симбиотиков и метабиотиков при коррекции нарушений микробиоценоза кишечника у животных с антибиотико-ассоциированным дисбиозом. *Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология*, 7(131), 106–120.
19. Arihara, K., Aoyagi, H., Ohata, M. (2013). Bifidobacterium growth-promoting peptide isolated from papain-digested meat proteins. *Proceedings of the 59th International Congress of Meat Science and Technology, Turkey*, 038.
20. Arihara, K. (2006). Strategies for designing novel functional meat products. *Meat Science*, 74(1), 219–229.
21. Chernukha, I.M., Fedulova, L.V., Kotenkova, E.A., Takeda, S., Sakata R.. (2018). Hypolipidemic and anti-inflammatory effects of aorta and heart tissues of cattle and pigs in the atherosclerosis rat model. *Animal Science Journal*, 1, 1–10.
22. Timón, M.L., Andrés, A.I., Galea, E.J., Parra, V., Petrón, M.J. (2011). Study of low molecular weight peptides (3<kDa) by RP-HPLC in Iberian chorizo, their antioxidative power and effect in oxidative stability of the products. *Proceedings of the 57th International Congress of Meat Science and Technology, Ghent, Belgium*, P177.

23. Lafarga, T., Hayes, M. (2014). Bioactive peptides from meat muscle and by-products: Generation, functionality and application as functional ingredients. *Meat Science*, 98(2), 227–239.
24. Meinert, M., Tøstesen, M., Bejerholm, C., Jensen, K., Støier S. (2013). Meat products containing hydrolysed by-products – a

health perspective. *Proceedings of the 59th International Congress of Meat Science and Technology, Turkey*, S11B-4.

25. Engsig, L.G., Bejerholm, C., Nersting L. (2013). New healthy meat products containing vegetables. *Proceedings of the 59th International Congress of Meat Science and Technology, Turkey*, 024.

## REFERENCES

1. Lygina, N. I., Rudakova, O. V., Soboleva, Yu. P. (2014). Economic factors of development of the market of functional foodstuff. *Social and Economic Phenomena and Processes*, 9(11), 115–120. (In Russian)
2. Obama, H., Ikeda, H., Moriyama, H. (2006). Health foods and foods with health claims in Japan. *Toxicology*, 221(1), 95–111.
3. Mit neuen Angeboten am Markt. Börner-Eisenacher setzt auf Wellness- und Bio-Fleischprodukte (2006). *Fleischwirtschaft*, 86(11), 72–73.
4. An overview of the Russian market of ingredients for healthy nutrition. [Electronic resource: <http://www.foodmarket.spb.ru/current.php?article=1888>. Access date 01.03.2018]. (In Russian)
5. Mathijs, E. (2015). Exploring future patterns of meat consumption. *Meat Science*, 109, 112–116.
6. Münch, S. (2006). Strategien zur Entwicklung neuer funktioneller Fleischezeugnisse. *Meat Science*, 74, 219–229.
7. Münch, S., Müller, W-D., Nitsch, P., Kröcker, L., Troeger, K. (2007). Funktionelle Fleischerzeugnisse. *Forschungsreport*, 1, 24–26.
8. Salminen, H., Herrmann, K., Weiss, J. (2010). Oil-in-water emulsions as a delivery system for ω-3 fatty acids in pork sausages. *Proceedings of the 56th International Congress of Meat Science and Technology Jeju, Korea*, D019.
9. Bou, R., Cofrades, S., Jiménez-Colmenero F. (2013). Properties of w1/o/w2 emulsions as potential fat replacers in meat products. *Proceedings of the 59th International Congress of Meat Science and Technology, Turkey*, S11B-7.
10. Trigueros, L., Peña, S., Ugidos, A.V., Sayas-Barberá, E., Pérez-Álvarez, J.A., Sendra, E. (2013). Food Ingredients as Anti-Obesity Agents: A Review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 53(9), 929–942.
11. Melanson, E.L., Astrup, A., Donahoo, W.T. (2009). The relationship between dietary fat and fatty acid intake and body weight, diabetes, and the metabolic syndrome. *Annals of Nutrition and Metabolism*, 55(103), 229–243.
12. Kong, B., Li, P., Zheng, D., Chen, Q. (2012). Nitrosylmyoglobin formation in raw pork batters without nitrite addition: role of *Staphylococcus xylosus* fermentation. *Proceedings of the 58th International Congress of Meat Science and Technology, Canada*, L-1.
13. Kostenko, Yu.G., Minaev, M.Yu., Solodovnikova, G.I., Samoilenko, V.A., Safronenko, L.V., Marchenko, N.M., Kudelich, A.V. (2004). The use of denitrifying microorganisms in production of uncooked smoked and uncooked air-dried meat products. *Meat Industry*, 9, 33–35. (In Russian)
14. Tunieva, E.K. (2016). Study on the possibility to use salts of potassium, calcium and magnesium instead of sodium chloride for meat products. *Vsy o myase*, 2, 34–36. (In Russian)
15. Resconi, V.C., Keenan, D.F., Gough, S., Doran, L., Allen, P., Kerry, J.P., Hamil R.M. (2013). Starch and fibre in whole-muscle cooked ham: yield, microstructure and sensory discrimination. *Proceedings of the 59th International Congress of Meat Science and Technology, Turkey*, 037.
16. Nitsch P. (2006). Funktionelle Fleischerzeugnisse-Brüh-und Kochwürste Strategien zur Entwicklung neuer funktioneller Fleischezeugnisse. *Kulmbach* 173, 181–184.
17. Luc De Vuyst, Gwen Falony, Frédéric Leroy. (2008). Probiotics in fermented sausages. *Meat Science*, 80(1), 75–78.
18. Chicherin, I.Yu., Pogorelsky, I.P., Lundovskikh, I.A., Darmov, I.V., Shabalina, M.R., Podvolotsky, A.N. (2016). Comparative experimental evaluation of the effectiveness of modern probiotics, prebiotics, synbiotics and metabiotics for correction of intestinal microbiocenosis in animals with antibiotic-associated dysbiosis. *Experimental and Clinical Gastroenterology*, 7(131), 106–120. (In Russian)
19. Arihara, K., Aoyagi, H., Ohata, M. (2013). Bifidobacterium growth-promoting peptide isolated from papain-digested meat proteins. *Proceedings of the 59th International Congress of Meat Science and Technology, Turkey*, 038.
20. Arihara, K. (2006). Strategies for designing novel functional meat products. *Meat Science*, 74(1), 219–229.
21. Chernukha, I.M., Fedulova, L.V., Kotenkova, E.A., Takeda, S., Sakata R. (2018). Hypolipidemic and anti-inflammatory effects of aorta and heart tissues of cattle and pigs in the atherosclerosis rat model. *Animal Science Journal*, 1, 1–10.
22. Timón, M.L., Andrés, A.I., Galea, E.J., Parra, V., Petrón, M.J. (2011). Study of low molecular weight peptides (3<kDa) by RP-HPLC in Iberian chorizo, their antioxidative power and effect in oxidative stability of the products. *Proceedings of the 57th International Congress of Meat Science and Technology, Ghent, Belgium*, P177.
23. Lafarga, T., Hayes, M. (2014). Bioactive peptides from meat muscle and by-products: Generation, functionality and application as functional ingredients. *Meat Science*, 98(2), 227–239.
24. Meinert, M., Tøstesen, M., Bejerholm, C., Jensen, K., Støier S. (2013). Meat products containing hydrolysed by-products – a health perspective. *Proceedings of the 59th International Congress of Meat Science and Technology, Turkey*, S11B-4.
25. Engsig, L.G., Bejerholm, C., Nersting L. (2013). New healthy meat products containing vegetables. *Proceedings of the 59th International Congress of Meat Science and Technology, Turkey*, 024.

**СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ****Принадлежность к организации**

**Лисицын Андрей Борисович** — доктор технических наук, профессор, академик РАН, научный руководитель, Федеральный научный центр пищевых систем им. В.М. Горбатова РАН  
109316, Москва, ул. Талалихина,26  
Тел.: +7-495-676-95-11  
E-mail: info@fncps.ru

**Чернуха Ирина Михайловна** — доктор технических наук, профессор, член-корреспондент РАН, ведущий научный сотрудник Экспериментальной клиники-лаборатории биологически активных веществ животного происхождения, Федеральный научный центр пищевых систем им. В.М. Горбатова РАН  
109316, Москва, ул. Талалихина,26  
Тел.: +7-495-676-63-21  
E-mail: imcher@inbox.ru

**Лунина Ольга Ивановна** — кандидат технических наук, старший научный сотрудник отдела международных отношений, Федеральный научный центр пищевых систем им. В.М. Горбатова РАН  
109316, г. Москва, ул. Талалихина,26  
Тел.: +7-495-676-63-21  
E-mail: o.lunina@fncps.ru

**Критерии авторства**

Авторы в равных долях имеют отношение к написанию рукописи и одинаково несут ответственность за plagiat

**Конфликт интересов**

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов

Поступила 15.03.2018

**AUTHOR INFORMATION****Affiliation**

**Andrey B. Lisitsyn** — doctor of technical sciences, professor, Academician of the Russian Academy of Sciences, Director, V.M. Gorbatov Federal Research Center for Food Systems of Russian Academy of Sciences  
109316, Moscow, Talalikhina str., 26  
Tel: +7-495-676-95-11  
E-mail: info@fncps.ru

**Irina M. Chernukha** — doctor of technical sciences, professor, corresponding member to the Russian Academy of Sciences, leading research scientist of Experimental clinic — laboratory «Biologically active substances of an animal origin», V.M. Gorbatov Federal Research Center for Food Systems of Russian Academy of Sciences  
109316, Moscow, Talalikhina str., 26  
Tel: +7-495-676-63-21  
E-mail: imcher@inbox.ru

**Olga I. Lunina** — candidate of technical sciences, senior research scientist, Department of international scientific and technical cooperation, V.M. Gorbatov Federal Research Center for Food Systems of Russian Academy of Sciences  
109316, Moscow, Talalikhina str., 26  
Tel: +7-495-676-63-21  
E-mail: o.lunina@fncps.ru

**Contribution**

Authors are equally relevant to the writing of the manuscript, and equally responsible for plagiarism

**Conflict of interest**

The authors declare no conflict of interest

Received 15.03.2018

# ВОЗМОЖНОСТИ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ СТАБИЛЬНЫХ ИЗОТОПОВ ДЛЯ ИДЕНТИФИКАЦИИ ГЕОГРАФИЧЕСКОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ МЯСА И МЯСНЫХ ПРОДУКТОВ. ОБЗОР

Горбунова Н.А.

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

**Ключевые слова:** идентификация географического происхождения, стабильные изотопы, фракционирование изотопов, мясо и мясные продукты

## Аннотация

Установление региона происхождения сырья и продуктов животного происхождения для исключения возможности их фальсификации задача достаточно сложная и требует поиска достоверных критериев идентификации, учитывая влияние геоклиматических и антропогенных факторов. Одним из методов выявления фальсификации географического происхождения пищевых, в том числе мясных продуктов является метод анализа стабильных изотопов ( $^2\text{H}/^1\text{H}$ ,  $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$ ,  $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$ ,  $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ ) и некоторых других элементов. В обзоре изложены основные теоретические положения исследования стабильных изотопов и их фракционирования, представлены результаты исследований изотопного состава мясного сырья и продуктов животного происхождения для верификации его географического происхождения и систем откорма, в основном, отличающихся содержанием в рационах растений C3 и C4-типов фотосинтеза. Анализ соотношения стабильных изотопов C, N и S обладает значительным потенциалом для аутентификации мясного сырья и продукции для подтверждения региона происхождения, а также может быть использован для определения различия между очень схожими сельскохозяйственными системами выращивания, даже если лежащие в основе механизмы не полностью выяснены.

Review paper

# POSSIBILITIES OF USING STABLE ISOTOPES FOR IDENTIFICATION OF GEOGRAPHICAL ORIGIN OF MEAT AND MEAT PRODUCTS. A REVIEW

Nataliya A. Gorbunova

V.M. Gorbatov Federal Research Center for Food Systems of Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia

**Key words:** identification of geographical origin, stable isotope, fractionation of isotopes, meat and meat products

## Abstract

Identification of geographical origin of raw materials and animal-derived products to exclude a possibility of their falsification is quite a complex task, which requires searching for reliable criteria of identification that account for an effect of the geoclimatic and anthropogenic factors. One of the methods for revealing falsification of geographical origin of food including meat products is a method of analysis of stable isotopes ( $^2\text{H}/^1\text{H}$ ,  $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$ ,  $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$ ,  $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ ) and several other elements. The review describes the main theoretical provisions of stable isotope analysis and their fractionation, presents the results of the investigation of the isotopic composition of meat raw materials and products of animal origin for verification of their geographical origin and feeding systems that differ largely in the content of C3 and C4 plants in the animal diet. Analysis of the C, N and S stable isotope ratio has a significant potential for authentication of meat raw materials and verification of the origin. In addition, it can be used to detect differences between very similar agricultural production systems, even if the underlying mechanisms are not fully elucidated.

## Введение

Задача выявления фальсификации животноводческой продукции, связанной с изменением (искажением) информации о месте происхождения (страны, региона) продукта, является достаточно сложной, но весьма актуальной.

Все большее значение не только для потребителей, но и для добросовестных производителей и дистрибуторов [1,2,3,4,5,6] приобретает проблема установления подлинности определенного продукта или выявление факта его фальсификации.

Заинтересованность потребителей в решении вопросов подлинности продуктов, которые они покупают, возрастает, особенно в тех случаях, когда речь идет о продуктах премиум-сегмента, включающего органические продукты питания, продукты, соответствующие принципам справедливой торговли (fairtrade products), а также продукты с защищенным обозначением происхождения.

Региональные и традиционные продукты воспринимаются как более полезные и вкусные и пользуются растущим спросом среди потребителей [1].

**ДЛЯ ЦИТИРОВАНИЯ:** Горбунова Н.А. Возможности использования стабильных изотопов для идентификации географического происхождения мяса и мясных продуктов. Обзор. Теория и практика переработки мяса. 2018;3(1):46–58. DOI:10.21323/2414-438X-2018-3-1-46-58

**FOR CITATION:** Gorbunova N.A. Possibilities of using stable isotopes for identification of geographical origin of meat and meat products. A review. Theory and practice of meat processing. 2018;3(1):46–58. (In Russ.) DOI:10.21323/2414-438X-2018-3-1-46-58

Установление региона происхождения сырья животного происхождения задача достаточно сложная и требует поиска достоверных критериев идентификации, учитывающих влияние геоклиматических и антропогенных факторов. Такими маркерами являются химические элементы и их изотопы, наличие которых в составе тела животного или продуктов животного происхождения [7]:

- определяется химическим составом воды, среды и кормовых объектов;
- зависит от физиологии животного и перераспределения элементов между органами в соответствии с потребностями обмена веществ;
- зависит от биогеохимической обстановки в конкретном субрегионе.

### **Охрана географических понятий**

Охрана географического происхождения продуктов питания (наименование места происхождения товара) вызвана необходимостью воспрепятствовать возможной фальсификации продукта, выделяющегося особыми свойствами из ряда аналогичных. Законодательство Европейского Союза, защищающее такие продукты обеспечивает поддержку разнообразия сельскохозяйственной продукции, экономическую активизацию местного населения и предотвращение его оттока из сельских районов, помочь производителям в получении достойной оплаты за подлинные продукты, устранение недобросовестной конкуренции и исключение обмана потребителей путём продажи поддельной или низкокачественной продукции [1,8].

В настоящее время защита географических указаний и гарантии традиционных особенностей в ЕС регулируются Положением № 1151/2012 Европейского парламента от 21 ноября 2012 года. В России правовые отношения в этой сфере регулируются законом о защите товарных знаков, и ведется реестр наименования мест происхождения товаров Российской Федерации.

В ЕС различают два вида охраняемых географических понятий.

Географическое обозначение происхождения (Protected designation of origin — PDO) предусматривает абсолютное соблюдение рецептуры, использование строго оговоренного исходного сырья и производство продукта исключительно в обозначенном месте региона, где на его изготовление и качественные характеристики влияет географическая среда, климатические особенности и (или) человеческие факторы, подразумевает название региона, используемое для наименования продукта, производимого только в этом регионе. Например, «Parma Ham» (Пармская ветчина) — охраняемое PDO, и согласно установленным требованиям весь технологический процесс производства ветчины должен осуществляться в месте ее происхождения — г. Парма, Италия.

Охраняемое географическое указание (Protected geographical indication — PGI) в основном базируется на признанной репутации данного продукта, которое позволяет, чтобы только один из процессов получения, обработки или приготовления продукта осуществлялся в названном регионе. Например, Байонская ветчина, или байонский жамбон — сыровяленый свиной окорок, производимый в окрестностях Байонны на юго-западе Франции. Продукту присвоен статус PGI с 1998 года.

Среди мясных продуктов с зарегистрированными PDO, PGI, а также гарантией традиционности (TSG) (traditional specialities guaranteed) в ЕС, в качестве примеров можно привести следующие:

Италия — мясные деликатесы: Лардо (Тоскана), Мортаделла (Болонья), Салями S. Angelo (Сицилия), Прошутто (Парма);

Франция — мясные деликатесы: Байонская ветчина, колбаски Boudin blanc de Rethel (Ретель);

Испания — мясо и изделия из него: Сесина (сыровяленый говяжий окорок), Галисийская ветчина Lacon Gallego и многочисленные варианты хамонов;

Великобритания — мясо и изделия из него: вырезка мэнского лохтана, свиной пирог Мелтон Моубрей (Лестершир), сторновейский чёрный пудинг (Внешние Гебридские острова), традиционные камберлендские сосиски (Камберленд).

### **Методология исследования стабильных изотопов**

Установление региона географической принадлежности сырья животного происхождения задача достаточно сложная, так как на физико-химические показатели будут оказывать влияние не только геоклиматические условия, но и антропогенные факторы [9].

На сегодня для определения фальсификаций географического происхождения пищевых продуктов используют, в частности, методы анализа стабильных изотопов ( $^2\text{H}/\text{H}$ ,  $^{18}\text{O}/\text{O}^{16}$ ,  $^{15}\text{N}/\text{N}^{14}$ ,  $^{13}\text{C}/\text{C}^{12}$ ,  $^{34}\text{S}/\text{S}^{32}$  и некоторых других элементов). Эти методы позволяют эффективно и достоверно определять как географическое происхождение продукта, так и источник сырья для него (натуральное или полученное в результате химического, биотехнологического или биохимического синтеза) и для продуктов животного происхождения способ откорма животных [2,10,11,12].

Использование методов анализа изотопного состава для выявления фальсификации продуктов питания началось в 1990-х годах. В настоящее время действует несколько документов, признанных Европейской комиссией по стандартизации (European Commission for Normalization) и Ассоциацией официальных химиков-аналитиков (Association of Official Analytical Chemists) по методам анализа стабильных изотопов, например, меда (AOAC — № 991.41), соков (AOAC — № 982.21; JAOAC79 — № 1, 1996; ENV 12142:1996) и др. [13].

Под изотопным составом понимают относительную распространенность изотопов данного элемента,

выраженную обычно в виде отношения мало распространенного изотопа к наиболее распространенному D/H ( $^2\text{H}/^1\text{H}$ ),  $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$ ,  $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$ ,  $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$  и т.д.

Распределение стабильных изотопов легких элементов в различных биологических и абиотических системах существенно различается. Особенности распределения связаны с процессами фракционирования, то есть с изменением соотношения изотопов в ходе многих биологических и геохимических процессов [14,15]. Способность к термодинамически упорядоченному распределению изотопов в сложных органических соединениях — специфическое свойство живых систем, поэтому изотопное отношение — достаточно достоверный критерий для распознавания биогенных и абиогенных соединений.

Современные исследования доказывают, что изотопы — носители памяти о рождении и преобразовании молекул, а фракционирование изотопов — это химическая история вещества [16]. Стабильные изотопы могут быть использованы как изотопные индикаторы в двух случаях:

- 1) использование их в качестве «внешней метки» при поступлении в живой организм в микроколичествах с пищей, водой, воздухом или лекарственными препаратами;
- 2) при определении соотношений собственных изотопов организма, являющихся внутримолекулярным явлением (так называемая «внутренняя метка»).

Фракционирование изотопов — следствие их физико-химической неравнценности, которая может сказываться либо на скоростях процессов, либо на энергетическом состоянии системы вещества [16].

Для исследований пищевых продуктов наиболее важно фракционирование изотопов углерода при фотосинтезе, а также фракционирование изотопов углерода и азота при биохимической (микробной) трансформации органического вещества. Например, накопление азота  $^{15}\text{N}$  в трофических цепях, накопление кислорода  $^{18}\text{O}$  в живых системах относительно источника потребляемой воды [2].

Для обозначения изотопного состава принято использовать величину  $\delta$ , представляющую собой отклонение (обычно в тысячных долях —‰ (промилле) от условного стандарта [2,3,17]:

$$\delta E = \frac{R_1 - R_2}{R_1} \cdot 1000, \text{‰},$$

где E — химический элемент;

$R_1$  — молярное отношение тяжелых изотопов легких в исследуемом объекте;

$R_2$  — молярное соотношение тяжелых изотопов легких в стандарте;

‰ — промилле.

Из формулы видно, если в образце отношение изотопов ( $R_1$ ) меньше, чем в стандарте (то есть образец содержит меньше тяжелых изотопов), то вариация

изотопного состава  $\delta$  имеет отрицательное значение, и, наоборот, при  $R_1$  большем, чем в стандарте — положительное.

Общепринятые международные стандартные образцы при изотопном анализе приведены в Табл. 1.

Таблица 1. Международные стандарты изотопного состава некоторых химических элементов [18]

Химический элемент	Стандарт	$R_{\text{стандарта}}, \text{‰}$
H	Standard Mean Ocean Water (SMOW) Океаническая вода	0,0001558
C	Pee Dee Belemnite (PDB) Ископаемые остатки белемнитов	0,0112372
N	Atmospheric air (AIR) Атмосферный воздух	0,0036765
O	Standard Mean Ocean Water (SMOW) Океаническая вода	0,0020052
S	Canopus Diablo Troilite (CDT) Минерал троилит из метеорита	0,0450045

### Фракционирование стабильных изотопов

Фракционирование стабильных изотопов кислорода и водорода происходит при круговороте воды в природе. Океаническая вода имеет в своем составе максимальное значение тяжелых изотопов  $^2\text{H}$  и  $^{18}\text{O}$ . Во время испарения, за счет большей подвижности легких изотопов, она насыщается ими, а при частичной конденсации наблюдается противоположный процесс обогащения воды тяжелыми изотопами [19].

Фракционирование стабильных изотопов углерода связано преимущественно с типом фотосинтеза растений, различающегося по уровню фракционирования изотопов  $^{12}\text{C}$  и  $^{13}\text{C}$  (выделяют  $C_3$ ,  $C_4$ , и CAM-типы фотосинтеза), при этом углерод биологических объектов обогащается легким изотопом  $^{12}\text{C}$  по сравнению с абиотическими [2,20], что позволяет получить ответ на вопрос, состоял ли основной рацион человека или животного преимущественно из  $C_3$ -растений (трава, сено, рис, пшеница, соевые бобы, картофель) или  $C_4$ -растений (кукуруза, сорго или говядина, полученная в результате откорма крупного рогатого скота кукурузой).

Фракционирование изотопов азота обусловлено жизнедеятельностью грунтовых нитрифицирующих микроорганизмов, процессами нитрификации и аммонификации в почве. Довольно интенсивное движение азота в трофических цепях служит причиной значительных, в десятки промилле, различий в  $\delta^{15}\text{N}$  в живых организмах [2].

Соотношения стабильных изотопов элементов, которые составляют все биологические ткани, такие как мышечная и жировая, зависит от многих факторов, но некоторые из них тесно связаны с их географическим происхождением [3]. Так, соотношение  $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$  и  $^2\text{H}/^1\text{H}$  в воде зависит от высоты над уровнем моря, расстояния до океанов и климата конкретного региона. Изотопный состав  $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$ ,  $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ ,  $^{34}\text{S}/^{32}\text{S}$

зависит от состава органических веществ почвы и удобрений.

Один из методов изучения изотопного состава продуктов питания — масс-спектрометрический. Он дает возможность точно дифференцировать массы различных изотопов химических элементов и их соотношение и, как результат, определять по ним, в частности, географическое происхождение продуктов.

### **Исследования изотопного состава мясного сырья и продуктов животного происхождения**

Анализ состава природных стабильных изотопов углерода, азота и серы является одним из потенциальных инструментов для верификации географического происхождения и истории откорма крупного рогатого скота, что связано с тем, что растения и не мигрирующие животные, которые их поедают в качестве корма, потенциально имеют специфичные для региона изотопные составы, определяемые климатическими условиями и условиями окружающей среды. Однако изотопная аутентификация продуктов животного происхождения проблема достаточно сложная, так как сельскохозяйственные животные могут потреблять корма различного происхождения, а также в течение их жизни они могут выращиваться на разных фермах. Кроме того, обширные исследования мяса животных диких видов говорят о том, что большинство биологических и физиологических факторов, оказывающих влияние на изотопный состав тканей животных, еще недостаточно верно интерпретируются [4].

Современные исследования по аутентификации мясного сырья с использованием изотопов легких химических элементов в целом используют два основных подхода:

- анализ соотношения изотопов  $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$  и  $^{2}\text{H}/^{1}\text{H}$  применяется для определения регионального происхождения, связанного с региональными климатическими условиями [10];
- анализ соотношения изотопов  $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$  и  $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$  применяется в основном для определения компонентов рациона, таких как кукуруза или концентраты [4].

Denadai et al. (2009), оценивая яйца от двух производителей в области Бастос, штат Сан-Паулу (Бразилия), пришли к выводу, что анализ данных стабильных изотопов углерода и азота ( $\delta^{13}\text{C}$  и  $\delta^{15}\text{N}$ ) позволяет отслеживать включение животных компонентов в рацион кур-несушек, путем обнаружения их в белках яиц. Так, при исследовании белка яиц было обнаружено, что один из производителей яиц при кормлении кур использует только растительные компоненты, а другой 1,5 % говяжьего мяса и костной муки [11].

Для оценки возможности определения региона происхождения китайскими учеными было изучено изменение соотношения стабильных изотопов углерода и азота в тканях крупного рогатого скота из различных провинций Китая. Для чего был проведен анализ

59 образцов говядины, жира (crude fat) и волос из хвоста крупного рогатого скота, выращенного в провинциях Цзилинь, Нинся, Гуйчжоу и Хэбэй (Jilin, Ningxia, Guizhou and Hebei provinces in China) с использованием изотопной масс-спектрометрии. Результаты дискриминантного анализа показали, что соотношение  $\delta^{13}\text{C}$  наиболее приемлемый показатель для прослеживаемости происхождения крупного рогатого скота, чем  $\delta^{15}\text{N}$  для всех исследованных образцов тканей. Успешность классификации может быть значительно повышена путем объединения результатов анализа стабильных изотопов С и N [5].

Дальнейшими исследованиями установлено, что анализ соотношения стабильных изотопов  $^{2}\text{H}/^{1}\text{H}$ ,  $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$ ,  $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ ,  $^{34}\text{S}/^{32}\text{S}$  волос из хвоста крупного рогатого скота может быть использован в качестве аналитического инструмента для определения региона происхождения.

Так, для классификации говядины из различных регионов Китая были определены значения  $\delta^{13}\text{C}$ ,  $\delta^{15}\text{N}$  и  $\delta^{2}\text{H}$  волос из хвоста 167 голов крупного рогатого скота из семи субрегионов четырех регионов, производящих говядину, которые показали значительные различия. Показатель общей оценки точности классификации (an overall correct classification rate) составил 82,6 % и при перекрестной проверке (cross-validation rate) — 79,6 % для четырех регионов производства говядины, в сравнении с 70,7 % и 70,1 % соответственно для проб семи субрегионов, что показывает потенциальную полезность анализа стабильных изотопов скота хвост волос для создания базы данных прослеживаемости говядины по регионам [21].

Была проверена эффективность анализа изотопов  $\delta^{13}\text{C}$  и  $\delta^{15}\text{N}$  липидного и остаточных фракций белка баранины [22]. Исследования проведены на 120 образцах баранины, произведенной в разных регионах стран: Великобритании, Испании, Франции, Греции, Исландии и Италии. Для оценки региона происхождения мяса использовали канонический дискриминантный анализ, дифференциацию проводили по отношению стабильных изотопов. 79,2 % образцов баранины были изначально классифицированы точно, а перекрестная проверка дискриминантной модели снизила количество верно классифицированных по географическому происхождению образцов до 67 %.

Южноафриканские исследователи использовали потенциал стабильных изотопов  $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$  и  $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$ , как маркера для проверки подлинности баранины овец Karoo, выращиваемых в регионе Karoo Южной Африки [23]. Потребители ценят баранину Karoo за качество и уникальные органолептические характеристики (травянистый аромат и вкус), которые, как считается, обусловлены свободным пастбищным выгулом овец, которые питались присущими региону Karoo душистыми растениями. Для исследования были получены по 10 образцов баранины с семи ферм, каждая из ко-

торых уникальна с точки зрения растительности мест выпаса. Также оценивался изотопный состав растений с мест выпаса, чтобы точно воспроизвести их влияние на ткани животных при фракционировании изотопов в ходе обмена веществ, приводящего к формированию различных соотношений изотопов в различных тканях животного.

Применяя дискриминантный анализ исследователи смогли правильно классифицировать по  $\delta^{13}\text{C}$  97,62 % и по  $\delta^{15}\text{N}$  — 96,43 % образцов мяса соответственно в зависимости от типа растений, используемых при кормлении. Исследования доказали, что анализ соотношения стабильных изотопов мяса — перспективный аналитический инструмент для проверки подлинности баранины и оценки мяса по типу питания.

Целесообразность измерения изотопов углерода и азота для дифференциации говядины из Японии, Австралии и Соединенных Штатов, а также говядины, происходящей из Европы подтверждена целым рядом исследователей [24].

Целью совместных исследований ученых Ирландии и Великобритании было изучение стабильных изотопов C, N и S как потенциальных маркеров географического происхождения и способа откорма (традиционное или органическое) для мясного крупного рогатого скота [10].

Для идентификации региона происхождения исследовались образцы бельгийской ( $n=2$ ), нидерландской ( $n=3$ ), французской ( $n=2$ ), немецкой ( $n=5$ ), итальянской ( $n=1$ ), испанской ( $n=5$ ), бразильской ( $n=10$ ) говядины, а также образцы из США (две партии,  $n=11$  и 12), кроме того изучались образцы стейков из филейного края или говяжьего бедра от ирландской говядины традиционного ( $n=17$ ) и органического ( $n=15$ ) откорма.

Установлено, что европейская говядина (включая традиционную ирландскую) значимо отличалась от американской говядины на основании анализа состава изотопов C и N. Наблюдаемое большое различие в  $\delta^{13}\text{C}$  между европейской и американской говядиной может быть объяснено только противоположными пропорциями растений с типом фотосинтеза C<sub>3</sub> и C<sub>4</sub> в рационах крупного рогатого скота. Средние уровни  $\delta^{13}\text{C}$  для традиционных ирландских минус  $24,5 \pm 0,7\%$  и других европейских минус  $21,6 \pm 1,0\%$  образцов говядины говорят о преобладании как ингредиентов рациона C<sub>3</sub> растений. В противоположность этому менее отрицательные уровни  $\delta^{13}\text{C}$  для североамериканской минус  $12,3 \pm 0,1\%$  и бразильской минус  $10,0 \pm 0,6\%$  говядины соответственно отражают почти исключительное использование C<sub>4</sub> кормов, таких как кукуруза или (суб)тропические пастбищные травы.

Эти результаты идентифицируют  $\delta^{13}\text{C}$  как простой маркер, который позволяет отличить американскую говядину от европейской. Это, вероятно, более верно для северной Европы, включая Ирландию и Бри-

танию, где преобладают пастбищные системы выращивания и использование C<sub>4</sub> сельскохозяйственной культуры — кукурузы не является общепринятым. Опубликованные независимые измерения  $\delta^{13}\text{C}$  мышц и волосяного покрова британского мясного крупного рогатого скота подтверждают это предположение. Однако данное исследование не отражает тот факт, что в центральной и южной Европе существуют системы выращивания мясного КРС, в рационах которых используют значительное содержание кукурузы. Например, уровни  $\delta^{13}\text{C}$  в мышцах КРС были в диапазоне от минус 24 % до минус 13 % при исследовании говядины, полученной с 23 ферм в южной Германии, в то время как у мясного скота с контролируемым травяным откормом средние уровни  $\delta^{13}\text{C}$  составили минус 27 %.

Интересно отметить, что соотношение  $\delta^{13}\text{C}$  и  $\delta^{15}\text{N}$  для образцов ирландской традиционной говядины существенно отличалось от этих показателей другой европейской говядины, что свидетельствует о том, что аутентификация происхождения говядины на основе изотопного анализа может работать в меньшем географическом масштабе [10].

В данном исследовании комбинированный анализ изотопного состава C, N и S позволил дифференцировать ирландскую говядину традиционного и органического откорма. Так, традиционная ирландская говядина имела менее отрицательные значения изотопного состава и, более вариабельные уровни  $\delta^{13}\text{C}$  по сравнению с органической говядиной минус  $24,5 \pm 0,7\%$  и минус  $26,0 \pm 0,2\%$  соответственно, подтверждая, что в традиционной системе откорма используют концентрированные корма в отличие от органической системы выращивания, которая ориентируется на травяные корма, имеющие более отрицательные уровни  $\delta^{13}\text{C}$  по сравнению с концентратами.

Традиционная говядина имела более высокие уровни  $\delta^{15}\text{N}$ , чем органическая, для которых значения этого показателя составили  $7,8 \pm 0,4\%$  и  $6,6 \pm 0,4\%$  соответственно. Различия в изотопном составе между органической и традиционной говядиной, частично обусловленные различиями в потреблении вида корма (трава или концентрат), подтверждаются результатами и других исследований [10,12]. Была выдвинута гипотеза, что этот результат отражает кумулятивное обогащение  $^{15}\text{N}$  в системе растение-почва за счет минеральных удобрений, вносимых в почву, на которой выпасались выращиваемые в традиционной системе животные. Также нельзя исключать альтернативных объяснений — например, более высокое содержание бобовых в кормах в органических системах откорма.

Кроме того, было отмечено небольшое увеличение величины  $\delta^{34}\text{S}$  в образцах органической  $7,9 \pm 0,6\%$  по сравнению традиционной  $7,2 \pm 0,4\%$  ирландской говядиной. Причины этого увеличения не достаточно ясны и не согласуются с задокументированными длительными изменениями соотношения  $\delta^{34}\text{S}$  в англий-

ской почве при внесении удобрений [25]. Возможно, этот результат отражает использование морских водорослей, которые имеют более высокое содержание  $^{34}\text{S}$  по сравнению с наземными источниками, используемыми для обогащения кормов или как удобрение на органических фермах.

Изучение влияния сезонных изменений на содержание стабильных изотопов C, N и S в органической и традиционной ирландской говядины (127 органических, 115 традиционных образцов) показало, что временные ряды соотношения  $\delta^{13}\text{C}$  в образцах обычной говядины являлись достоверно неслучайными и обладали отчетливым сезонным положительным сдвигом больше чем 2 % в период с декабря по июнь, в то время как значение  $\delta^{13}\text{C}$  в органической говядине было менее изменчивым и значительно более низким. В традиционной говядине значение  $\delta^{15}\text{N}$  было чрезвычайно инвариантным (оставаясь близким к 7 %) в течение всего года, в то время как органическая говядина была более изменчивой, а также отличалась значительно более низким показателем  $\delta^{15}\text{N}$ . Содержание изотопов серы ( $\delta^{34}\text{S}$ ) демонстрировало сложную сезонную динамику в обоих видах говядины [12].

Таким образом, в изотопном составе говядины могут иметь место сезонные закономерности, которые, вероятно, отражают изменения в методах кормления животных и определяются скоростью обновления их тканей. Следовательно, сезонные изменения необходимо учитывать при подтверждении подлинности говядины и других продуктов животного происхождения с использованием изотопного анализа.

С целью изучения особенностей содержания стабильных изотопов в мясе в Южной Корее проведено масштабное исследование 599 образцов свинины различного происхождения из 14 стран: 335 образцов из Южной Кореи, 264 — из Южной и Северной Америк (Канада, США, Мексики, Чили), 9 — из европейских стран (Австрии, Голландии, Дании, Франции, Бельгии, Финляндии, Польши, Венгрии, Испании). Исследовалось соотношение стабильных изотопов  $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$  и  $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$  в белках обезжиренного сухого остатка свинины. Анализ показал четкое разделение в происхождении мяса с трех регионов: Южной Кореи, Америки и Европы. Также исследователи выделили близкие по значению результаты  $\delta^{13}\text{C}$  для США и Мексики: минус 14,78 и минус 14,81 % соответственно, Голландии и Дании: минус 25,57 % и минус 25,24 % соответственно, что объясняется, вероятно, их географической близостью [26].

Получение достоверных данных по изотопному составу зависит от сравниваемых объектов (ткани и части мясной туши), так как отличия метаболических процессов в различных тканях животных могут приводить к варьированию показателей в значительных пределах. Сравнение образцов жира, белка от 12 ягнят из шести европейских стран по изотопному составу

C и N подтверждает этот тезис. Так, соотношение  $\delta^{13}\text{C}$  жира ягнят составило по странам: Великобритания — минус 32,5 %, Испания — минус 26,3 %, Франция — минус 29,4 %, Греция — минус 24,8 %, Исландия — минус 31,5 %, Италия — минус 28,5 %,  $\delta^{13}\text{C}$  белка мяса ягнят: минус 26,8 %, минус 22,3 %, минус 24,0 %, минус 21,1 %, минус 25,8 %, минус 22,7 % соответственно,  $\delta^{15}\text{N}$  белка мяса ягнят: 6,3 %; 6,6 %; 9,1 %; 5,75 %; 2,5 %; 5,7 % соответственно [6].

Учеными Восточно-Сибирский государственный университет технологий и управления и Институт общей и экспериментальной биологии Сибирского отделения РАН проведен анализ содержания стабильных изотопов углерода и азота в говядине, изучения трофической взаимосвязи проведены исследования изотопного состава углерода в растительности и почве восьми районов Забайкалья. Содержание стабильных изотопов углерода составило в травах минус 27,16 % до минус 27,86 %, что соответствует диапазону для биомассы наземных растений  $\text{C}_3$ -типа [27].

Полученные данные показали, что содержание стабильных изотопов углерода в мышечной ткани от крупного рогатого скота возрастом 2–3 года из восьми разных районов Забайкалья: Кабанский, Бичурский, Джидинский, Закаменский, Кижингинский, Хоринский, Заиграевский, Агинский составляет от минус 24,28 % до минус 25,84 %. Это свидетельствует о том, что все образцы мышечной ткани можно отнести к местному сырью, так как значения  $\delta^{13}\text{C}$  не превышают уровень минус 24,0 %. Содержание стабильных изотопов азота в исследуемых образцах существенно не отличается и составило от 5,85 % до 7,84 %, что в пределах значений, свидетельствующих о преимущественно натуральном корме животных. Обобщение результатов исследований позволило установить, что исследованные образцы мяса, представленные в торговой сети региона, действительно местного производства и относятся к натуральному сырью [27].

Возможна идентификация страны происхождения мясного сырья в готовых продуктах. Так, ученые Бразилии и США измерили соотношения стабильных изотопов  $\delta^{13}\text{C}$  и азота  $\delta^{15}\text{N}$  в мясной составляющей котлет БигМак, как продукта «глобализации», из двадцати шести стран (Аргентина, Австралия, Австрия, Бразилия, Канада, Китай, Израиль, Германия, США, Япония, Малайзия, Турция, Швеция, Южная Африка, Португалия, Франция, Великобритания и др.) [28].

Исследователи учитывали, что соотношение стабильных изотопов  $\delta^{13}\text{C}$  в котлетах БигМак изменяется в диапазоне от минус 11 % (скот кормили исключительно кукурузой или тропическими травами) до минус 25 % (скот кормили растениями  $\text{C}_3$ -фотосинтеза: пшеница, соя, травы умеренного пояса). Любые промежуточные значения между этими крайними значениями означали, что скот кормили растениями обеих  $\text{C}_3$  и  $\text{C}_4$  групп.

Установлено, что значения  $\delta^{13}\text{C}$  варьировались от минус 25,4 ‰ до минус 11,1 ‰ для исследованных образцов мясной части котлет БакМак, среднее значение  $\delta^{13}\text{C}$  для всех стран составило 16,2 %. Наиболее низкие значения  $\delta^{13}\text{C}$  обнаружены в образцах из Великобритании (Англия и Шотландия), а самые высокие — из Бразилии. Достаточно высокие различия значений  $\delta^{13}\text{C}$  внутри страны было обнаружено в Австралии, так в средние значения  $\delta^{13}\text{C}$  мяса котлет БигМак из городов Перт и Сидней составили минус 14,0 ‰ (n = 4) и минус 19,6 ‰ (n = 4) соответственно. Содержание стабильного изотопа углерода во второй партии образцов котлет БикМак из разных McDonald's Сиднея в среднем составило минус 22,7 ‰ (n = 3).

Котлеты БигМак из Японии имели более высокие значения  $\delta^{13}\text{C}$ , чем ожидалось на основе анализа сельского хозяйства этой страны с растениями  $\text{C}_3$ -типа, однако Япония импортирует говядину из Австралии, где распространены растения  $\text{C}_4$ -фотосинтеза. Страны с низкими широтами, как правило, имели более высокие значения  $\delta^{13}\text{C}$ , чем страны более высоких широт, что отражает большее распространение растений  $\text{C}_4$  в теплых регионах.

Значения  $\delta^{15}\text{N}$  в исследуемых образцах котлет БигМак изменялось от 4,2 до 9,2 ‰, при средней величине 6,6 ‰. Образцы котлет из Японии имели наибольшее содержание изотопов  $^{15}\text{N}$ , а образцы из Китая — минимальное. Как в случае определения  $\delta^{13}\text{C}$  образцы из Ав-

стралии показали значительную вариабельность значений  $\delta^{15}\text{N}$ , изменявшуюся в диапазоне от 4,2 ‰ до 8,5 ‰. Статистически значимых различий в величине  $\delta^{15}\text{N}$  котлетах БикМак, купленных в различных странах и группированных по географической широте не обнаружено.

Исследователи, с учетом анализа данных ВТО по импорту говядины, установили, что в большинстве стран, входящих в данное исследование при производстве котлет для котлет БикМак используют говядину местного выращивания, за исключением шести стран, представленных в порядке возрастания импорта говядины: Швеция, Израиль, Португалия, Япония, Малайзия и Нидерланды.

### **Заключение**

В настоящее время в целом ряде стран мира проводятся широкомасштабные исследования по использованию метода анализа стабильных изотопов для определения географического происхождения мяса и мясных продуктов. Анализ проведенных исследований свидетельствует, что изотопный состав продуктов животного происхождения определяется климатическими и географическими условиями (широта нахождения региона, удаленность от моря), кормовой базой скота, а также сезонными изменениями режима откорма. Анализ соотношения стабильных изотопов C, N и S обладает потенциалом как один из инструментов аутентификации мяса.

## **Introduction**

The task of revealing falsification of animal-derived products linked with a change (distortion) of the information about product geographical origin (country, region) is rather complicated but quite topical. The problem of a certain product authentication or revelation of the fact of its falsification has been acquiring an increasing importance not only for consumers but also for responsible producers and distributors [1,2,3,4,5,6].

An interest of consumers in a solution to the problem of product authenticity regarding the foods they buy is especially increased in case of products from the premium segment, which includes organic foods, products corresponding to the principles of fair trade as well as products with protected designation of origin (PDO).

Local and traditional products are perceived as healthier and tastier, and find a growing demand among consumers [1].

Identification of the regional origin of animal raw materials is quite a complicated task and requires a search for reliable identification criteria with consideration for the geoclimatic and anthropogenic factors. The markers are chemical elements and their isotopes, which presence in the animal body and animal products [7]:

- is conditioned by the chemical composition of water, environment and feedstuff;

- depends on the animal physiology and element redistribution between organs according to the metabolic requirements;
- depends on a biogeochemical condition in a certain sub-region.

### **Protection of geographical terms**

Protection of geographical origin of foods (name of regional origin of goods) is caused by a necessity to prevent possible falsification of a product that is distinguished by its specific properties compared to a range of similar products. The European Union legislation that protects such products, supports diversity of agricultural products and economic activation of local population and prevents its outflow from rural areas, assists producers in obtaining decent payments for authentic products and eliminating unfair competition and product deception by sale of falsified or low quality products [1,8].

At present, protection of geographical indications and guarantee of the traditional peculiarities are regulated in the EU by Regulation (EU) No. 1151/2012 of the European Parliament and of the Council of 21 November 2012 on quality schemes for agricultural products and foodstuffs. In Russia, legal relations in this sphere are regulated by the law of trademark protection, and names of regional origins of goods are recorded in the register of the Russian Federation.

Two protected geographical terms are distinguished in the EU.

Protected designation of origin (PDO) envisions an absolute adherence to a recipe, the use of the strictly specified raw materials and product manufacture exclusively in the designated place of the region, where its production and qualitative characteristics are influenced by the geographic environment, climatic peculiarities and (or) human factors; it is intended to mean the name of a region used for the name of a product produced only in this region. For example, Prosciutto di Parma (Parma Ham) is PDO and according to the established requirements the entire technological process of ham production is to be carried out in the place of its origin (Parma, Italy).

Protected geographical indication (PGI) is largely based on the acknowledged reputation of this product and at least one of the processes of production, processing or preparation of a product is to be carried out in the specified region. For example, Bayonne Ham or Jambon de Bayonne is an air-dried pork ham, which is produced in the area near Bayonne, France. The product was given the PGI status in 1998.

Among meat products with the registered PDO, PGI and TSG (traditional speciality guaranteed) in the EU, the following can be listed as examples:

Italy — meat specialities: Lardo di Colonnata (Tuscany), Mortadella (Bologna), Salame Sant Angelo (Sicily), Prosciutto (Parma);

France — meat specialities: Bayonne Ham, sausage Boudin blanc de Rethel (Rethel);

Spain — meat and meat products: Cecina (air-dried beef), Galician ham Lacon Gallego and many variants of jamón;

the United Kingdom — meat and meat products: Manx Loaghtan loin, Melton Mowbray Pork Pie (Leicestershire), Stornoway black pudding (The Outer Hebrides), traditional Cumberland sausage (Cumberland).

### Methodology of stable isotope analysis

Identification of the geographical origin of animal raw materials is quite a complicated task, as not only the geo-climatic but also anthropogenic factors would affect physico-chemical indicators [9].

At present, the methods for analysis of stable isotopes ( $^2\text{H}/^1\text{H}$ ,  $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$ ,  $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$ ,  $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ ,  $^{34}\text{S}/^{32}\text{S}$  and several other elements) are used to detect falsifications of food geographical origin. These methods allow effective and reliable identification of the geographical origin of a product, its raw material source (natural or obtained as a result of chemical, biotechnological or biochemical synthesis) and a method of animal feeding for animal-derived products [2,10,11,12].

The use of the methods of isotopic composition to establish food falsification began in the 1990s. Nowadays, there are several documents acknowledged by the European Committee for Standardization (CEN) and the As-

sociation of Official Analytical Chemists for the methods of stable isotope analysis, for example, in honey (AOAC — No. 991.41), juices (AOAC — No. 982.21; JAOAC79 — No. 1, 1996; ENV 12142:1996) and others [13].

The isotopic composition is the relative abundances of isotopes of a given element usually expressed as a ratio of low abundant isotope to more abundant ( $\text{D}/\text{H}$  ( $^2\text{H}/^1\text{H}$ ),  $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$ ,  $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$ ,  $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$  and so on).

Distribution of stable isotopes of light elements in different biological and abiotic systems is significantly different. The peculiarities of distribution are linked with the processes of fractionation; that is, with changes in the isotope ratios in the course of many several biochemical and geochemical processes [14,15]. An ability of thermodynamically ordered isotope distribution in complex organic compounds is a specific property of living systems; therefore, the isotope ratio is quite a reliable criterion for discrimination of biogenic and abiogenic compounds.

Current investigations prove that isotopes are memory carriers regarding the birth and transformation of molecules and isotope fractionation is a chemical history of a substance [16]. Stable isotopes can be used as isotopic indicators in two cases:

- 1) as an «external marker» upon entering into a living organism in micro-quantities with food, water, air or medicines;
- 2) when detecting the ratio of own isotopes of the body, which are intra-molecular phenomenon (so-called «internal marker»).

The fractionation of isotopes is a consequence of their physico-chemical differences, which can affect the velocities of processes or the energy state of a substance system [16].

For food analysis, the most important is fractionation of carbon isotopes upon photosynthesis, fractionation of carbon and nitrogen isotopes upon biochemical (microbial) transformation of the organic matter in soil and accumulation of  $^{15}\text{N}$  (and to a lesser degree  $^{13}\text{C}$ ) in the trophic chains, local distribution of oxygen and hydrogen isotopes in water reservoirs [2].

For notation of the isotopic composition, the  $\delta$  value is used, which is a deviation (usually in parts per thousand (%)) (permille) from the relative standard [2,3,17]:

$$\delta E = \frac{R_1 - R_2}{R_1} \cdot 1000, \text{‰},$$

Where,

$E$  — is a chemical element;

$R_1$  — is the molar ratio of the heavy to light isotopes in the studied object;

$R_2$  — is the molar ratio of the heavy to light isotopes in the standard;

‰ — permille.

It can be seen from the equation that if the ratio of isotopes ( $R_1$ ) in a sample is lower than in the standard (that is a sample contains less heavy isotopes) than the variation of the isotopic composition  $\delta$  has a negative value; and, on the

contrary, when  $R_1$  is higher than in a standard, the variation is positive.

The generally accepted international standard samples for isotopic analysis are given in Table 1.

**Table 1. International standards of the isotopic composition of several chemical elements [18]**

Chemical element	Standard	$R_{\text{of standard, \%}}$
H	Standard Mean Ocean Water (SMOW) (Ocean Water)	0.0001558
C	Pee Dee Belemnite (PDB) (Belemnite fossils)	0.0112372
N	Atmospheric air (AIR) (Atmospheric air)	0.0036765
O	Standard Mean Ocean Water (SMOW) (Ocean Water)	0.0020052
S	Canyon Diablo Troilite (CDT) (Mineral troilite from meteorite)	0.0450045

### Fractionation of stable isotopes

Fractionation of stable isotopes of oxygen and hydrogen takes place upon water circulation in nature. The ocean water has the maximum value of the heavy isotopes  $^{2\text{H}}$  и  $^{18\text{O}}$ . During evaporation, it is saturated with the light isotopes due to their higher mobility, while the opposite process of water enrichment in the heavy isotopes is observed upon partial condensation [19].

Fractionation of the carbon stable isotopes is mainly associated with the type of plant photosynthesis that differs in the level of fractionation of  $^{12\text{C}}$  and  $^{13\text{C}}$  isotopes ( $\text{C}_3$ ,  $\text{C}_4$ , and CAM photosynthesis types are distinguished). With that, carbon of biological objects is enriched in the light isotope,  $^{12\text{C}}$ , compared to abiotic ones [2,20], which allows answering a question whether the main diet of a human or animal consisted largely of  $\text{C}_3$ -plants (grass, hay, rice, wheat, soybeans, potato) or  $\text{C}_4$ -plants (corn, sorgo or beef from cattle fed with corn).

Fractionation of the nitrogen isotopes is conditioned by the live activities of soil nitrifying microorganisms, processes of nitrification and ammonification in soil. Quite intensive transfer of nitrogen in the trophic chains is a cause of significant (in tens of promille) differences in  $\delta^{15\text{N}}$  in living organisms [2].

The ratio of stable isotopes of elements, which are constituents of all biological tissues (such as the muscle and adipose tissues) depends on many factors; however, several of them are closely linked with their geographical origin [3]. For example,  $^{18\text{O}}/^{16\text{O}}$  and  $^{2\text{H}}/^{1\text{H}}$  ratio in water depends on the elevation above sea level, distance from the oceans and climate of a certain region. Isotopic  $^{15\text{N}}/^{14\text{N}}$ ,  $^{13\text{C}}/^{12\text{C}}$ ,  $^{34\text{S}}/^{32\text{S}}$  composition depends on the composition of the organic substances of soil and fertilizers.

One of methods for studying the food isotopic composition is mass-spectrometry, which makes it possible to precisely differentiate masses of different isotopes of chemical elements and their ratio, and as a result, to detect product geographical origin according to them.

### Studies of the isotopic composition of meat raw materials and animal-derived products

Analysis of the natural stable isotopes of carbon, nitrogen and sulfur is one of the potential tools for verification of the geographical origin and history of cattle feeding, which is linked with the fact that plants and non-migratory animals that eat those plants potentially have region-specific isotopic compositions influenced by climatic and environmental conditions. However, isotopic authentication of animal-derived products is quite a complicated task as farm animals can eat feeds of different origin and, in addition, can be raised on different farms during their lives. Moreover, numerous studies on meat from wildlife species show that the majority of biological and physiological factors that affect the isotopic composition of animal tissues are still inadequately interpreted [4].

Recent studies on authentication of meat raw materials using isotopes of light chemical elements, in general, rely on two main approaches:

- analysis of the  $^{18\text{O}}/^{16\text{O}}$  and  $^{2\text{H}}/^{1\text{H}}$  isotope ratio is used for identification of regional origin associated with climatic conditions of a certain region [10];
- analysis of the  $^{15\text{N}}/^{14\text{N}}$  and  $^{13\text{C}}/^{12\text{C}}$  isotope ratio is largely applied for determination of dietary components, such as corn or concentrates [4].

Denadai et al. (2009) analyzed eggs from two producers in the area of Bastos, São Paulo State (Brasil) and came to a conclusion that analysis of the stable carbon and nitrogen ( $\delta^{13\text{C}}$  and  $\delta^{15\text{N}}$ ) isotopes allows monitoring the inclusion of animal-derived components into the diets of laying hens by their detection in egg albumen. In analysis of egg albumen, they found that one manufacturer used only plant-based products, while another 1.5% of bovine meat and bone meal [11].

To assess the possibility of ascertaining the geographical origin, the Chinese scientists studied the changes in the carbon and nitrogen stable isotope ratios in cattle tissues from various Chinese provinces. To this end, they analyzed 59 samples of beef, cattle crude fat and tail hair from Jilin, Ningxia, Guizhou and Hebei provinces using isotope ratio mass spectrometry (IRMS). The results of discriminant analysis demonstrated that the  $\delta^{13\text{C}}$  ratio was the most acceptable indicator for cattle origin traceability compared to  $\delta^{15\text{N}}$  for all analyzed tissue samples. The success of classification could be significantly improved by combining the results of the analysis of the C and N stable isotopes [5].

The following research established that analysis of the ratio of stable isotopes  $^{2\text{H}}/^{1\text{H}}$ ,  $^{15\text{N}}/^{14\text{N}}$ ,  $^{13\text{C}}/^{12\text{C}}$ ,  $^{34\text{S}}/^{32\text{S}}$  in cattle tail hair can be used as an analytical tool for identification of geographical origin. For example, to classify beef from different Chinese regions, the  $\delta^{13\text{C}}$ ,  $\delta^{15\text{N}}$  and  $\delta^{2\text{H}}$  values were measured in 167 cattle tail hair samples from 7 subregions in four beef producing regions, which showed significant differences. An overall rate of correct classification was 82.6 %, a rate of cross-validation was 79.6 % for four beef producing regions compared to 70.7 % and 70.1 %, respectively, for sev-

en subregions, which suggest the potential for using stable isotope analysis of cattle tail hair samples in order to create beef traceability database by regions [21].

The effectiveness of  $\delta^{13}\text{C}$  and  $\delta^{15}\text{N}$  isotope analysis in lipid and residual fractions of lamb protein was verified [22]. The study was carried out on 120 samples of lamb produced in different regions of different countries: the United Kingdom, Spain, France, Greece, Island and Italy. To evaluate the region of meat origin, canonical discriminant analysis was used. The differentiation was carried out by stable isotope ratios. Initially, 79.2 % of lamb samples were classified correctly, while cross-validation of the discriminant model reduced the number of samples that were correctly identified by geographical origin to 67 %.

The South African researchers used the potential of stable isotopes  $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$  and  $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$  as a marker for authentication of lamb from Karoo sheep raised in the Karoo region of South Africa [23]. Consumers highly value Karoo lamb for its quality and unique organoleptic characteristics (grassy aroma and taste), which are thought to be conditioned by the fact that sheep are raised in the free-range systems and eat aromatic Karoo plants. Seven farms, which had unique vegetation, were included into the study.

For analysis, 10 lamb meat samples were taken from each of the seven farms. In addition, the isotopic composition of vegetation from the grazing places were studied to precisely determine their influence on the animal tissues when fractioning isotopes in the course of metabolism, which leads to formation of different isotope ratios in different animal tissues. Using the discriminant analysis, the researchers were able to correctly classify 97.62 % and 96.43 % meat samples by  $\delta^{13}\text{C}$  and  $\delta^{15}\text{N}$ , respectively, depending on a type of vegetation used in animal feeding. The study confirmed that analysis of the stable isotope ratio in meat is a promising analytical tool for authentication of lamb meat and for meat assessment by the type of the animal diet.

The expediency of measuring carbon and nitrogen isotopes for differentiation of beef from Japan, Australia, and the USA, as well as beef from Europe was confirmed by several researchers [24].

The aim of the cooperative research of the scientists from Ireland and the UK was to study the C, N and S stable isotopes as potential markers of geographical origin and the method of feeding (conventional or organic) for beef cattle [10].

To identify the regional origin, beef samples from Belgium ( $n=2$ ), the Netherlands ( $n=3$ ), France ( $n=2$ ), Germany ( $n=5$ ), Italy ( $n=1$ ), Spain ( $n=5$ ) and Brazil ( $n=10$ ), as well as the US samples (two lots,  $n = 11$  and 12) were analyzed. In addition, samples of beef striploin or round steak from Irish conventional ( $n=17$ ) and organic ( $n=15$ ) feeding systems were also included into this study.

It was established that European beef, including conventional Irish beef, differed significantly from American beef according to the analysis of the C and N isotopic compositions. The considerable difference in  $\delta^{13}\text{C}$  established for European and American beef was explained by differ-

ent proportions of plants with types of photosynthesis in the cattle diets. Mean  $\delta^{13}\text{C}$  values found in the samples of conventional Irish and other European beef ( $-24.5 \pm 0.7 \text{‰}$  and  $-21.6 \text{‰} \pm 1.0 \text{‰}$ , respectively) were attributed to a predominance of  $\text{C}_3$  plants as ingredients of the diet, while less negative  $\delta^{13}\text{C}$  values in the US and Brazilian beef samples ( $-12.3 \pm 0.1 \text{‰}$  and  $-10.0 \pm 0.6 \text{‰}$ , respectively) were explained by the almost exclusive use of  $\text{C}_4$  feed, such as corn or (sub)tropical pasture grasses.

According to these results,  $\delta^{13}\text{C}$  was identified as a single marker that allowed differentiation of American beef from European. This is likely more relevant to northern Europe, in particular, Ireland and Britain, where pastoral beef producing systems are dominant, while the use of the  $\text{C}_4$  crop, corn, is not common. This hypothesis is confirmed by the published independent  $\delta^{13}\text{C}$  measurements in muscles and hair from British beef cattle. However, the study does not reflect the existence in central and southern Europe of beef producing systems, which use the diets with the high content of corn. For example,  $\delta^{13}\text{C}$  in cattle muscles were in a range from  $-24 \text{‰}$  to  $-13 \text{‰}$  in an analysis of beef from 23 farms in southern Germany; however, in beef cattle with controlled grass feeding, the  $\delta^{13}\text{C}$  mean values were  $-27 \text{‰}$ .

It is interesting to note that the  $\delta^{13}\text{C}$  and  $\delta^{15}\text{N}$  ratio in the samples of Irish conventional beef differed significantly from these indicators in other European beef, which shows that authentication of beef origin based on the isotopic analysis can be accomplished on the smaller geographical scale [10].

In this study, the combined analysis of the C, N and S isotopic composition allowed differentiation of Irish beef produced in the conventional and organic cattle feeding systems. For example, conventional Irish beef had less negative values of the isotopic composition and more variable  $\delta^{13}\text{C}$  values compared to organic beef ( $-24.5 \pm 0.7 \text{‰}$  and  $-26.0 \pm 0.2 \text{‰}$ , respectively), which confirms that the conventional cattle feeding system uses concentrated feed in contrast to the organic farming system oriented toward grass feed with more negative  $\delta^{13}\text{C}$  values compared to concentrates.

Conventional beef had higher  $\delta^{15}\text{N}$  values compared to organic beef, which were at the level of  $7.8 \pm 0.4 \text{‰}$  and  $6.6 \pm 0.4 \text{‰}$ , respectively. The differences in the isotopic composition between organic and conventional beef, which are partly conditioned by the differences in the consumed feed type (grass or concentrate), are confirmed by the results of the other studies [10,12]. It was hypothesized that the obtained results are indicative of the cumulative  $^{15}\text{N}$  enrichment in the plant-soil system due to mineral fertilizers introduced into soil, where conventionally raised animals graze. Also, there can be alternative explanations, such as higher legume content in feeds in the organic farming systems.

In addition, a small increase in the  $\delta^{34}\text{S}$  value was observed in the samples of organic Irish beef compared to conventional ( $7.9 \pm 0.6 \text{‰}$  and  $7.2 \pm 0.4 \text{‰}$ , respectively). The reasons for this increase are not fully understood and it does not correspond to the documented long-term chang-

es in the  $\delta^{34}\text{S}$  ratio in English soils upon using fertilizers [25]. This result can possibly reflect the use of seaweed with higher  $^{34}\text{S}$  content compared to terrestrial sources, which are applied for feed enrichment or as fertilizer in the organic farm systems.

The study of the effect of seasonal changes on the composition of stable isotopes C, N and S in organic and conventional Irish beef (127 organic and 115 conventional samples) demonstrated that the time series of the  $\delta^{13}\text{C}$  ratio in the samples of conventional beef were significantly non-random and had a clear seasonal positive shift of more than 2‰ in the period from December to June, while the  $\delta^{13}\text{C}$  value in organic beef was less changeable and significantly lower. In conventional beef, the  $\delta^{15}\text{N}$  was surprisingly invariant (remaining close to 7‰) during the whole year; organic beef was more variable and was distinguished by lower  $\delta^{15}\text{N}$  value. The sulfur isotope composition ( $\delta^{34}\text{S}$ ) demonstrated complex seasonal dynamics in both beef types [12].

Thus, there can be seasonal patterns in the beef isotopic composition, which, possibly, reflect changes in the ways of animal feeding and are conditioned by the rate of their tissue turnover. Therefore, it is necessary to take into account seasonal changes upon authentication of beef and other animal-derived products with the use of isotopic analysis.

To study the peculiarities of stable isotope composition in meat, a large-scale research was done in South Korea with investigation of 599 pork samples of different origin from 14 countries: 335 samples from South Korea, 264 from South and North America (Canada, USA, Mexico, Chile), 9 from European countries (Austria, the Netherlands, Denmark, France, Belgium, Finland, Poland, Hungary and Spain). The ratio of stable isotopes  $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$  and  $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$  in proteins of defatted dry pork mass was studied. Analysis demonstrated clear separation of meat from three regions according to its origin: South Korea, America and Europe. Moreover, the researchers revealed close values of  $\delta^{13}\text{C}$  for the USA and Mexico (-14.78‰ and -14.81‰, respectively) and for the Netherlands and Denmark (-25.57‰ and -25.24‰, respectively), which can, possibly, be explained by their geographical closeness [26].

Acquisition of reliable data on the isotopic composition depends on comparable objects (tissues and meat carcass parts) as the differences in the metabolic processes in different animal tissues can lead to significant variations in the indicators. Comparison of fat and protein samples from 12 lambs from 6 European countries by the C and N isotopic composition confirms this thesis. For example, the  $\delta^{13}\text{C}$  ratio in lamb fat by countries was: -32.5‰ in the United Kingdom, -26.3‰ in Spain, -29.4‰ in France, -24.8‰ in Greece, -31.5‰ in Iceland, -28.5‰ in Italy;  $\delta^{13}\text{C}$  in lamb protein was: -26.8‰, -22.3‰, -24.0‰, -21.1‰, -25.8‰, -22.7‰, respectively;  $\delta^{15}\text{N}$  in lamb protein was: 6.3‰, 6.6‰, 9.1‰, 5.75‰, 2.5‰, 5.7‰, respectively [6].

The scientists of the East Siberia State University of Technology and the Institute of General and Experimental Biology of the Siberian Branch of the RAS carried out an analysis

of the carbon and nitrogen stable isotope content in beef, a study of the trophic relation and an investigation of the carbon isotopic composition in vegetation and soil of eight regions of the Transbaikal Territory. The stable carbon isotope content in grass was -27.16 to -27.86 ‰, which corresponded to the range for biomass of terrestrial  $\text{C}_3$  plants [27].

The obtained data demonstrated that the stable carbon isotope content in the muscle tissue from cattle at 2–3 years of age from eight different regions of the Transbaikal Territory (Kabansky, Bichurcky, Dzhidinsky, Zakamensky, Kizhigincky, Khorinsky, Zaigraevsky and Aginsky) was in a range from -24.28‰ to -25.84‰. This indicates that all meat tissue samples can be attributed to local raw materials as the  $\delta^{13}\text{C}$  values did not exceed the level of -24.0‰. The nitrogen stable isotope content in the studied samples did not differ significantly and was from 5.85‰ to 7.84‰, which is in a range of values that indicate largely natural animal feed. Generalization of the experimental results allowed establishing that all analyzed meat samples presented in the regional retail chain were produced locally and were classified as natural raw materials [27].

It is possible to identify the country of origin of meat raw materials in finished products. For example, the Brazilian and US scientists measured the ratio of the  $\delta^{13}\text{C}$  and  $\delta^{15}\text{N}$  stable isotopes in the meat component of Big Mac® patties, which are regarded as a product of «globalization», from 26 countries (Argentina, Australia, Austria, Brazil, Canada, China, Israel, Germany, USA, Japan, Malaysia, Turkey, Sweden, South Africa, Portugal, France, UK and others) [28].

The researchers took into consideration that the  $\delta^{13}\text{C}$  stable isotope ratio in Big Mac® patties would vary in a range from -11‰ (cattle were fed exclusively with corn or tropical grasses) to -25‰ (cattle were fed with  $\text{C}_3$  plants: wheat, soybeans and grasses of the temperate belt). The intermediate values between these extreme values showed that cattle were fed with plants of both  $\text{C}_3$  and  $\text{C}_4$  groups.

It was established that  $\delta^{13}\text{C}$  varied from -25.4‰ to -11.1‰ for the analyzed meat part of the Big Mac® patties; the overall median  $\delta^{13}\text{C}$  value for all countries was -16.2‰. The lowest  $\delta^{13}\text{C}$  values were in the sample from the United Kingdom (England and Scotland) and the highest in the samples from Brazil. Quite high differences in the  $\delta^{13}\text{C}$  values within a country were found in Australia; for example, the median  $\delta^{13}\text{C}$  values in the Big Mac® patties from Perth and Sydney were -14.0‰ (n=4) and -19.6‰ (n=4), respectively. The carbon stable isotope content in the second batch of Big Mac® patty samples from a different McDonald's outlets in Sydney was on average -22.7‰ (n=3).

Japanese patties had higher  $\delta^{13}\text{C}$  values than was expected based on the analysis of the country's agriculture with plants of  $\text{C}_3$  type; however, Japan imports beef from Australia, where plants of  $\text{C}_4$  type of photosynthesis are common. As a rule, higher  $\delta^{13}\text{C}$  values were found in the samples from the lower latitude countries compared to those from the higher latitude countries, which reflects wider distribution of  $\text{C}_4$  plants in the warm regions.

The  $\delta^{15}\text{N}$  values in the studied samples of Big Mac® patties were in a range from 4.2‰ to 9.2‰ (the median value of 6.6‰). The content of  $^{15}\text{N}$  isotopes was the highest in the Japanese patty samples and the lowest in the Chinese samples. The samples from Australia showed a significant variability of the  $\delta^{15}\text{N}$  values (in a range from 4.2‰ to 8.5‰), which was similar to the results of  $\delta^{13}\text{C}$  measurement. No statistically significant differences were found in the  $\delta^{15}\text{N}$  value in the Big Mac® patties bought in different countries and grouped by geographical latitude.

Taking into consideration the analysis of the FAO data on beef import, the researchers established that locally produced beef was used for production of Big Mac® patties in most countries included in this study except six countries

presented in the order of an increase in beef import: Sweden, Israel, Portugal, Japan, Malaysia and the Netherlands.

### Conclusion

At present, large-scale studies on the use of the method of stable isotope analysis are carried out in several countries of the world to identify the geographical origin of meat and meat products. Analysis of the performed research indicates that the isotopic composition of animal-derived products is determined by the climatic and geographical conditions (the geographical latitude of a region, distance from the sea), cattle feeding base as well as seasonal changes in feeding regimes. Analysis of the stable isotope ratio of C, N and S has a potential as one of the tools for meat authentication.

## БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Montowska, M., Pospiech, E. (2012). Is Authentication of Regional and Traditional Food Made of Meat Possible? *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 52(6), 475–487 [Электронный ресурс: <http://dx.doi.org/10.1080/10408398.2010.501408>. Дата обращения 20.06.2017]
2. Талибова, А.Г., Колеснов, А.Ю. (2011). Оценка качества и безопасности пищевой продукции методом изотопной масс-спектрометрии. *Аналитика*, 1(1), 44–48.
3. Gandemer, G. (2012). Quality of dry cured ham: Methods for authentication of geographical origin, rearing system and technology. *7th International Symposium on the Mediterranean Pig*. Zaragoza: CIHEAM, 535–542.
4. Kelly, J.F. (2000). Stable isotopes of carbon and nitrogen in the study of avian and mammalian trophic ecology. *Canadian Journal of Zoology*, 78(1), 1–27.
5. Guo, B.L., Wei, Y.M., Pan, J.R., Li, Y. (2010). Stable C and N isotope ratio analysis for regional geographical traceability of cattle in China. *Food Chemistry*, 118(4), 915–920.
6. Петров, Ф., Демихов, Ю., Жукова, Я. (2014). Идентификация географического происхождения пищевых продуктов по изотопному составу. *Товары и рынки*, 2(18), 24–35.
7. Третьяков, А.В., Абраменкова, О.И., Подколзин, И.В., Соловьев, А.И. (2012). Идентификация географической принадлежности мяса и икры методом химического фингерпринтинга. *Ветеринария сегодня*, 2, 39–46.
8. Знаменская, В.С. (2016). Правовая охрана наименований мест происхождения товаров в России и за рубежом. Автореферат дис. канд. юр.науч. Москва, РГАИС. – 20 с.
9. Carrijo, A.S., Pezzato, A.C., Ducatti, C., Sartori, J.R., Trinca, L., Silva, E.T. (2006). Traceability of bovine meat and bone meal in poultry by stable isotope analysis. *Brazilian Journal of Poultry Science*, 8(1), 63–68.
10. Schmidt, O., Quilter, J.M., Bahar, B., Moloney, A.P., Scrimgeour, C.M., Begley, I.S., Monahan, F.J. (2005). Inferring the origin and dietary history of beef from C, N and S stable isotope ratio analysis. *Food Chemistry*, 91(3), 545–549.
11. Denadai, J. C., Ducatti, C., Sartori, J. R., Pezzato, A. C., Mori, C., Gottmann, R., Mituo, M.A.O. (2009). Traceability of bovine meat and bone meal in eggs from laying hens fed with alternative ingredients. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 44(1), 1–7.
12. Bahar, B., Schmidt, O., Moloney, A.P., Scrimgeour, C.M., Begley, I.S., Monahan, F.J. (2008). Seasonal variation in the C, N and S stable isotope composition of retail organic and conventional Irish beef. *Food Chemistry*, 106(3), 1299–1305.
13. Recommended methods of analysis and sampling. *CODEX STAN234–1999*. With amendments adopted by the 30<sup>th</sup> Session of the Codex Alimentarius Commission. — Published online, 2007. — authenticity [Электронный ресурс: [http://www.fao.org/fileadmin/\\_user\\_upload/agns/pdf/CXS\\_234e.pdf](http://www.fao.org/fileadmin/_user_upload/agns/pdf/CXS_234e.pdf). Дата обращения 28.07.2017]
14. Галимов, Э. М. (1981). Природа биологического фракционирования изотопов. М, Наука.— 247 с.
15. Чернуха, И.М., Федулова, Л.В., Котенкова, Е.А., Лисицын, А.Б. (2016). Изучение влияния воды с модифицированным изотопным (D/H) составом на репродуктивную функцию, фор-
- мирование и развитие потомства крыс. *Вопросы питания*, 85(5), 36–43.
16. Лысенко, О. Б., Скульский, Н. А., Шатило, В. Б., Кошлякова, Т. А., Лысенко, М. О., Соботович, Э. В. (2014). Проблемы и перспективы использования внутримолекулярных изотопных соотношений основных биогенных элементов как нового ресурса диагностики патологий разной этиологии. *Живые и биокосные системы*, 8. [Электронный ресурс: <http://www.jbks.ru/archive/issue-8/article-8>, Дата обращения 28.07.2017]
17. Галимов, Э.М., Севастьянов, В.С., Кульбачевская, Е.В., Голявин, А.А. (2004). Идентификация географического места происхождения наркотических веществ на основе изотопного анализа углерода и азота. *Масс-спектрометрия*, 1(1), 31–36.
18. Ghidini, S., Ianieri, A., Zanardi, E., Conter, M., Boschetti, T., Iacumin, P., Bracchi, P.G. (2006). Stable isotopes determination in food authentication: a review. *Universita di Parma, Annali Della Facolta Di Medicina Veterinaria*, XXVI, 193–204.
19. Guillou, C. Reneiro, F. (2001). Isotope methods for the control of food and beverages. *Proceedings of an Advisory Group meeting held in Vienna, 20–23 September 1999 «New approaches for stable isotope ratio measurements»*. Vienna: IAEA, 39–55.
20. Талибова, А.Г., Колеснов, А.Ю. (2010). Выявление происхождения сырья методом масс-спектрометрии. *Мясные технологии*, 3, 52–55.
21. Liu, X., Guo, B., Wei, Y., Shi, J., Sun, S. (2013). Stable isotope analysis of cattle tail hair. A potential tool for verifying the geographical origin of beef. *Food Chemistry*, 140(1–2), 135–140.
22. Piasentier, E., Valusso, R., Camin, F., Versini, G. (2003). Stable isotope ratio analysis for authentication of lamb meat. *Meat Science*, 64(3), 239–247.
23. Erasmus, S.W., Muller, M., van der Rijst, M., Hoffman, L.C. (2016). Stable isotope ratio analysis: A potential analytical tool for the authentication of South African lamb meat. *Food Chemistry*, 192, 997–1005.
24. Ballin, N.Z. (2010). Authentication of meat and meat products. *Meat Science*, 86(3), 577–587.
25. Knights, J. S., Zhao, F. J., Spiro, B., McGrath, S. P. (2000). Long-term effects of land use and fertilizer treatments on sulfur cycling. *Journal of Environmental Quality*, 29(6), 1867–1874.
26. Kim, K.S., Kim, J.S., Hwang, I.M., Jeong, I.S., Khan, N., Lee, S.I., Jeon, D.B., Song, Y.H., Kim, K.S., (2013). Application of stable isotope ratio analysis for origin authentication of pork. *Korean Journal for Food Science of Animal Resources*, 33(1), 39–44.
27. Жамсаарова, С.Д., Баженова, Б.А., Чимитдоржиева, Г.Д., Забалуева, Ю.Ю. (2017). К вопросу о содержании стабильных изотопов углерода и азота в мышечной ткани крупного рогатого скота, выращенного в различных районах Забайкалья. *Все о мясе*, 5, 34–37.
28. Martinelli, L.A., Nardoto, G.B., Chesson, L.A., Rinaldi, F.D., Ometto, J.P.H.B., Cerling, T.E., Ehleringer, J.R. (2011). Worldwide stable carbon and nitrogen isotopes of Big Mac® patties: An example of a truly «glocal» food. *Food Chemistry*, 127(4), 1712–1718.

## REFERENCES

1. Montowska, M., Pospiech, E. (2012). Is Authentication of Regional and Traditional Food Made of Meat Possible? *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 52(6), 475–487 [Electronic resource: <http://dx.doi.org/10.1080/10408398.2010.501408>. Access date 20.06.2017]
2. Talibova, A.G., Kolesnov, A.Yu. (2011). Assessment of the quality and safety of food products by the method of isotope mass spectrometry. *Analitika*, 1(1), 44–48. (in Russian)
3. Ganderer, G. (2012). Quality of dry cured ham: Methods for authentication of geographical origin, rearing system and technology. 7th International Symposium on the Mediterranean Pig. Zaragoza: CIHEAM, 535–542.
4. Kelly, J.F. (2000). Stable isotopes of carbon and nitrogen in the study of avian and mammalian trophic ecology. *Canadian Journal of Zoology*, 78(1), 1–27.
5. Guo, B.L., Wei, Y.M., Pan, J.R., Li, Y. (2010). Stable C and N isotope ratio analysis for regional geographical traceability of cattle in China. *Food Chemistry*, 118(4), 915–920.
6. Petrov, F., Demikhov, Yu., Zhukova, Ya. (2014). Identification of the geographical origin of products by isotope content. *Products and Markets*, 2(18), 24–35. (In Ukrainian)
7. Tretyakov, A.V., Abramenkova, O.I., Podkolzin, I.V., Solovyev, A.I. (2012). Identification of geographic origin of meat and caviar using chemical fingerprinting techniques. *Veterinary Science Today*, 2, 39–46. (in Russian)
8. Znamenskaya, V.S. (2016). Legal protection of appellations of origin of goods in Russia and abroad. Author's abstract of the dissertation for the scientific degree of Candidate of Technical Science. Moscow, PGASIS, 20p. (in Russian)
9. Carrijo, A.S., Pezzato, A.C., Ducatti, C., Sartori, J.R., Trinca, L., Silva, E.T. (2006). Traceability of bovine meat and bone meal in poultry by stable isotope analysis. *Brazilian Journal of Poultry Science*, 8(1), 63–68.
10. Schmidt, O., Quilter, J.M., Bahar, B., Moloney, A.P., Scrimgeour, C.M., Begley, I.S., Monahan, F.J. (2005). Inferring the origin and dietary history of beef from C, N and S stable isotope ratio analysis. *Food Chemistry*, 91(3), 545–549.
11. Denadai, J. C., Ducatti, C., Sartori, J. R., Pezzato, A. C., Mori, C., Gottmann, R., Mituo, M.A.O. (2009). Traceability of bovine meat and bone meal in eggs from laying hens fed with alternative ingredients. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 44(1), 1–7.
12. Bahar, B., Schmidt, O., Moloney, A.P., Scrimgeour, C.M., Begley, I.S., Monahan, F.J. (2008). Seasonal variation in the C, N and S stable isotope composition of retail organic and conventional Irish beef. *Food Chemistry*, 106(3), 1299–1305.
13. Recommended methods of analysis and sampling. CODEX STAN234–1999. With amendments adopted by the 30th Session of the Codex Alimentarius Commission. — Published online, 2007. — authenticity [Electronic resource: [http://www.fao.org/fileadmin/\\_user\\_upload/agns/pdf/CXS\\_234e.pdf](http://www.fao.org/fileadmin/_user_upload/agns/pdf/CXS_234e.pdf). Access date 28.07.2017]
14. Galimov, E.M. (1981). Nature of biological isotope fractionation. Moscow: Nauka.— 247 p. (in Russian)
15. Tchernuha, I.M., Fedulova, L.V., Kotenkova, E.A., Lisitsyn, A.B. (2016). The study of the influence of water with modified isotope (D/H) composition on the reproductive function, formation and development of the offspring rats. *Voprosy pitaniya*, 85(5), 36–43. (in Russian)
16. Lysenko, O.B., Skulskiy, N.A., Shatilo, V. B., Koshliakova, T.A., Lysenko, M.O., Sobotovich, E. V. (2014). Problems and prospects of the main biogenic elements intramolecular isotope correlations using as a new resource of different aetiology pathologies diagnostics. *Live and biocose systems*, 8. [Electronic resource: <http://www.jbks.ru/archive/issue-8/article-8> Access date 28.07.2017] (in Russian)
17. Galimov, E.M., Sevastyanov, V.S., Kulbachevskaya, E.V., Golyavin, A.A. (2004). The identification of the geographical origin of drugs based on the carbon and nitrogen isotope ratios *Mass-Spektrometria*, 1(1), 31–36. (in Russian)
18. Ghidini, S., Ianieri, A., Zanardi, E., Conter, M., Boschetti, T., Iacumin, P., Bracchi, P.G. (2006). Stable isotopes determination in food authentication: a review. *Universita di Parma: Annali Della Facolta Di Medicina Veterinaria*, XXVI, 193–204.
19. Guillou, C., Reneiro, F. (2001). Isotope methods for the control of food and beverages. *Proceedings of an Advisory Group meeting held in Vienna «New approaches for stable isotope ratio measurements»*. Vienna: IAEA, 39–55.
20. Talibova, A.G., Kolesnov, A.Yu. (2010). Identifying the origin of raw materials by the method of mass spectrometry. *Mysnye tekhnologii*, 3, 52–55. (in Russian)
21. Liu, X., Guo, B., Wei, Y., Shi, J., Sun, S. (2013). Stable isotope analysis of cattle tail hair. A potential tool for verifying the geographical origin of beef. *Food Chemistry*, 140(1–2), 135–140.
22. Piasentier, E., Valusso, R., Camin, F., Versini, G. (2003). Stable isotope ratio analysis for authentication of lamb meat. *Meat Science*, 64(3), 239–247.
23. Erasmus, S.W., Muller, M., van der Rijst, M., Hoffman, L.C. (2016). Stable isotope ratio analysis: A potential analytical tool for the authentication of South African lamb meat. *Food Chemistry*, 192, 997–1005.
24. Ballin, N.Z. (2010). Authentication of meat and meat products. *Meat Science*, 86(3), 577–587.
25. Knights, J. S., Zhao, F. J., Spiro, B., McGrath, S. P. (2000). Long-term effects of land use and fertilizer treatments on sulfur cycling. *Journal of Environmental Quality*, 29(6), 1867–1874.
26. Kim, K.S., Kim, J.S., Hwang, I.M., Jeong, I.S., Khan, N., Lee, S.I., Jeon, D.B., Song, Y.H., Kim, K.S., (2013). Application of stable isotope ratio analysis for origin authentication of pork. *Korean Journal for Food Science of Animal Resources*, 33(1), 39–44.
27. Zhamsharanova, S.D., Bazhenova, B.A., Chimitdorzhieva, G.D., Zabalueva, Yu.Yu. (2017). Content of stable isotopes of carbon and nitrogen in muscle tissue of the cattle from different areas of the Zabaikals. *Vsy o myase*, 5, 34–37. (in Russian)
28. Martinelli, L.A., Nardoto, G.B., Chesson, L.A., Rinaldi, F.D., Ometto, J.P.H.B., Cerling, T.E., Ehleringer, J.R. (2011). Worldwide stable carbon and nitrogen isotopes of Big Mac® patties: An example of a truly «glocal» food. *Food Chemistry*, 127(4), 1712–1718.

## СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

## Принадлежность к организации

Горбунова Наталия Анатольевна — кандидат технических наук, Ученый секретарь, Федеральный научный центр пищевых систем им. В.М. Горбатова РАН  
109316, г. Москва, ул. Талалихина, 26.  
Тел.: +7-495-676-93-17  
E-mail: ngorbunova@vniimp.ru

## Критерии авторства

Полностью подготовила рукопись и несет ответственность за плагиат

## Конфликт интересов

Автор заявляет об отсутствии конфликта интересов.

Поступила 08.11.2017

## AUTHOR INFORMATION

## Affiliation

Nataliya A. Gorbunova — kandidat of technical sciences, Scientific secretary, V.M. Gorbatov Federal Research Center for Food Systems of Russian Academy of Sciences  
109316, Moscow, Talalikhina str., 26  
Tel.: +7-495-676-93-17  
E-mail: ngorbunova@vniimp.ru

## Contribution

Completely prepared the manuscript and is responsible for plagiarism

## Conflict of interest

The author declare no conflict of interest.

Received 08.11.2017

# ТЕХНОЛОГИЯ СУ-ВИД — НЕКОТОРЫЕ АСПЕКТЫ КАЧЕСТВА И МИКРОБИОЛОГИЧЕСКОЙ БЕЗОПАСНОСТИ

Фофанова Т.С.

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

**Ключевые слова:** су-вид, мясные продукты, качество, микробиологическая безопасность

## Аннотация

Ухудшение демографической ситуации (сокращение рождаемости, увеличение количества пожилых людей и др.), изменение привычек питания, связанных с изменениями темпов жизни, желанием все большего числа людей питаться «здоровыми» продуктами и при этом не тратить много времени на их приготовление привели к повышению спроса на готовые к кулинарной обработке мясные продукты быстрого приготовления, сохраняющие полезные для здоровья компоненты. В результате все большее применение находят технологии минимальной обработки, такие как су-вид. Су-вид — технология низкотемпературного приготовления продуктов питания в вакууме. Приготовление пищи методом су-вид позволяет осуществлять надежный контроль за вкусовыми показателями и микробиологической безопасностью продуктов при строгом соблюдении температурно-временных режимов обработки и хранения, учитывая то, что относительно мягкая термическая обработка может не обеспечить гибель всех вегетативных клеток и не инактивирует споры. Для улучшения микробиологических показателей таких продуктов могут быть применены дополнительные способы обработки с использованием натуральных antimикробных средств. В статье представлен обзор научных исследований, направленных на изучение влияния технологии су-вид на изменение качественных показателей и микробиологическую безопасность продуктов, произведенных с использованием данной технологии.

Review paper

# SOUS VIDE TECHNOLOGY — SEVERAL ASPECTS OF QUALITY AND MICROBIOLOGICAL SAFETY

Tatyana S. Fofanova

V.M. Gorbatov Federal Research Center for Food Systems of Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia

**Key words:** sous vide, meat products, quality, microbiological safety

## Abstract

Worsening of the demographic situation (a decline in the birth rate, a growth in the proportion of the elderly and so on), changes in eating habits associated with the changes in the pace of life, a desire of the increasing number of people to consume «healthy» products and not to spend much time on their preparation led to an increase in the demand for convenient ready-to-cook meat products that retain healthy components. As a result, the minimal processing technologies such as sous vide are finding ever increasing use. Sous vide is a technology of low temperature thermal processing of food under vacuum. Preparation of food by sous vide technology allows reliable control of product sensory indicators and microbiological safety with strict adherence to the temperature-time regimes of processing and storage taking into consideration the fact that relatively mild thermal processing may not ensure death of all vegetative cells and does not inactivate spores. To enhance the microbiological safety of these products, several additional methods of treatment with the use of natural antimicrobial substances can be applied. The paper presents a review of scientific studies aimed at investigation of an effect of the sous vide technology on changes in quality indicators and microbiological safety of sous vide products.

Многочисленными исследованиями доказано — от качества питания и сбалансированности рациона по всем пищевым веществам зависит поддержание здоровья, работоспособность, умственное развитие и продолжительность жизни человека, что лежит в основе концепции сбалансированного питания. В связи с этим, растет спрос на функциональные продукты, способствующие повышению резистентности организма к неблагоприятным факторам окружаю-

щей среды, а также на минимально обработанные пищевые продукты, которые подвергаются щадящей технологической обработке, не содержат синтетических пищевых добавок или содержат их в ограниченном количестве [1,2].

Кроме того, изменение стиля жизни, увеличение числа работающих женщин и пожилых людей предопределяют повышение спроса на полуфабрикаты и готовые к употреблению пищевые продукты, и ве-

**ДЛЯ ЦИТИРОВАНИЯ:** Фофанова Т.С. Технология су-вид — некоторые аспекты качества и микробиологической безопасности. Теория и практика переработки мяса. 2018;3(1): 59–68. DOI: 10.21323/2414-438X-2018-3-1-59-68

**FOR CITATION:** Fofanova T.S. Sous vide technology — several aspects of quality and microbiological safety. Theory and practice of meat processing. 2018;3(1):59–68. (In Russ.) DOI 10.21323/2414-438X-2018-3-1-59-68

дут к расширению рынка продукции быстрого приготовления. В последние годы активно увеличивается рынок готовых к употреблению пищевых продуктов, таких как полностью готовые к употреблению (RTE), готовые к употреблению в пищу после подогрева (RTH), готовые к кулинарной обработке мясные продукты (RTC) [3].

Данные тенденции стимулируют разработку готовых к употреблению охлажденных пищевых продуктов, выработанных с применением технологий тепловой обработки при низкотемпературных режимах с предварительным вакуумированием полуфабриката в упаковку из полимерного материала, что позволяет производить продукты, удобные для потребителей по простоте и быстроте приготовления, являясь в то же время химически и микробиологически безопасными при сохранении желаемых вкуса, аромата, цвета и текстуры пищевых продуктов [2,4].

Одним из видов минимальной обработки является технология су-вид, что в переводе с французского означает «под вакуумом» [5]. Существуют разные мнения о том, когда начали применять эту технологию. Некоторые авторы считают, что технология су-вид появилась в конце 1960-х годов, когда французские и американские инженеры использовали вакуумную упаковку для герметизации и пастеризации промышленных пищевых продуктов с целью увеличения продолжительности их хранения [6]. Другие утверждают, что система су-вид была разработана в середине 1970-х годов во Франции [7, 8, 9] и использована французским поваром George Pralus для снижения потерь в гусиной печени, которые при использовании традиционных методов достигали 40% из-за высокого содержания в ней жира. Применение метода су-вид с термообработкой при более низкой и точно контролируемой температуре позволяло снизить потери до 5% с одновременным значительным улучшением флейвора готового продукта [10].

Возможности процесса су-вид в отношении увеличения срока хранения минимально обработанных пищевых продуктов активно изучаются с 1990-х годов [11] для достижения соответствия двум конфликтующим требованиям — минимальному нагреванию для сохранения полезных для здоровья компонентов продукта и повышенной продолжительности хранения [5,8,12].

Обработка су-вид — это процесс термической обработки сырья, герметично упакованного в термостабильные пластиковые пакеты под вакуумом, осуществляемый при строго контролируемых умеренных температурах (обычно 65–95°C) в течение длительного времени с последующим быстрым охлаждением (как правило до достижения температуры 3°C в центре продукта) [13,14] или в некоторых случаях замораживанием [11] и хранением при низкой температуре (0–3°C в случае охлажденных продуктов) [7,11,15].

Точный контроль температуры дает хорошую воспроизводимость и обеспечивает более высокий контроль готовности по сравнению с традиционными методами термообработки [11].

Технология су-вид может обеспечить преимуществами при решении многих проблем и задач, стоящих перед пищевой промышленностью и крупными предприятиями общественного питания при приготовлении пищевых продуктов и их транспортировке на длительные расстояния [10].

Герметичная упаковка под вакуумом позволяет теплу эффективно переносится от воды (пара) в пищевой продукт [15]. Термообработка пищевых продуктов при оптимальных температурах в центре продукта устраняет чрезмерное нагревание продукта, и желаемая степень готовности может быть достигнута во всем объеме мясного продукта, что обеспечивает более стабильное качество [10].

Кроме того, вакуумная упаковка и, соответственно, удаление кислорода из окружающей среды продукта, приводит к снижению окисления продукта, уменьшению потерь влаги и летучих вкусо-ароматических веществ, снижению необходимых количеств соли, специй и трав, так как их действие в условиях термообработки су-вид усиливается. Обработка су-вид позволяет сохранять витамины и минеральные вещества внутри продукта при термообработке, что делает продукт более питательным [10]. Система су-вид приводит к более высокому выходу и лучшей текстуре мясных продуктов, в частности, изготовленных из говядины, по сравнению с традиционной обработкой [16].

Помимо этого, данная технология приводит к улучшению органолептических характеристик мясных продуктов, которые играют большую роль в принятии потребителями решения о покупке.

Как известно, мясо является важной частью рациона человека на протяжении тысячелетий. Однако в последние десятилетия произошли значительные изменения качества мяса. В настоящее время мясо, включая мясо птицы, поступает от более молодых и менее жирных животных [11,17]. Традиционные методы термообработки, применяемые при переработке такого мяса, часто приводят к сухим и безвкусным продуктам [11]. Для того, чтобы натуральный продукт из мяса, например, мяса птицы был более сочным и нежным, температура термообработки не должна превышать 60–65°C [17], что может быть обеспечено применением метода су-вид. В результате нагревания при более низких температурах по сравнению с традиционными в течение длительного периода времени происходит тендеризация мяса, способствуя получению особенно вкусных и питательных продуктов даже из менее дорогих отрубов [7,10,15,18].

Длительное время термообработки, как полагают, способствует большей растворимости коллагена, и, таким образом, снижению жесткости мяса. Кроме

того, термообработка мяса при этих умеренных температурах приводит к более низкой коагуляции миофибриллярных белков, которая для большинства белков этого типа происходит при температурах выше 70–80 °C, что, несомненно, имеет большое значение для текстуры мяса, так как коагуляция миофибриллярного белка считается одной из причин увеличения жесткости мяса во время термообработки. Так, свиная щековина, обработанная методом су-вид, при температуре 80 °C в течение длительного времени имела меньшую жесткость по сравнению с продуктом, приготовленным традиционным методом [18].

В исследовании, проведенном в Испании, была установлена целесообразность применения метода су-вид для производства продуктов из баранины. Сектор баранины традиционно является основополагающим элементом экономики нескольких регионов Испании. Однако в последние 10–20 лет, отмечается снижение потребления на душу населения баранины, в том числе и из-за методов ее приготовления в соответствии с традиционной рецептурой. Производство готовых к употреблению блюд из баранины с использованием метода су-вид является перспективной альтернативой традиционным методам для успешной коммерциализации данного вида мяса [14].

Еще один пример возможного применения технологии су-вид при изготовлении национальных мясных продуктов — это производство донер-кебаба для розничной торговли. Донер-кебаб — это традиционный турецкий продукт, который широко потребляется не только в Турции, но и во всем мире, особенно в Германии, Греции, Великобритании, США, Канаде, Пакистане и Саудовской Аравии [19]. В настоящее время для реализации в розничной торговле донер-кебаб упаковывается после термообработки и предлагается к продаже в замороженном или охлажденном виде. Обработка донер-кебабов методом су-вид может рассматриваться как новый метод производства и упаковки этого вида продукта при существенном улучшении таких органолептических характеристик продукта, как запах, вкус, нежность и сочность по сравнению традиционной технологией [19].

Технология су-вид также может успешно применяться при производстве продуктов из мяса птицы, например, для улучшения их органолептических показателей, позволяя вырабатывать продукты с приемлемыми сочностью, флейворм, цветом и текстурой [8,20].

Учитывая вышеизложенное, неудивительно, что эта технология широко используется в ресторанах, предприятиях общественного питания и индустрии производства готовых к употреблению продуктов [14,20] для обработки различных типов пищевых продуктов, в том числе из мяса разных видов животных, позволяя готовить практически любой кусок мяса, таким образом, что оно становится сочным, мягким и вкусным [11].

Однако необходимо подчеркнуть, что производство продуктов с высокими питательными и органолептическими свойствами безусловно не должно сопровождаться ухудшением их микробиологической безопасности.

В продуктах су-вид относительно низкие температуры тепловой обработки, длительное холодильное хранение, неадекватный контроль температуры при производстве и на всем протяжении холодильной цепи от дистрибуции до розничной торговли [4,21] могут создавать условия для развития как патогенов, так и микроорганизмов, вызывающих порчу, например, молочнокислых бактерий (*Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Weissella* и *Carnobacterium*), приводящих к образованию постороннего запаха и вкуса, слизистых экссудатов молочного цвета и CO<sub>2</sub>, а также дрожжей и плесеней [12,13,22].

Среди патогенов наиболее важными в мясных продуктах су-вид, несомненно, являются спорообразующие микроорганизмы. Умеренная термообработка, применяемая к пищевым продуктам су-вид, как правило, приводит к разрушению вегетативных клеток бактерий, но их споры термоустойчивы. При неадекватном охлаждении или нарушении температурных режимов при хранении, существует вероятность прорастания активированных спор с последующим размножением вегетативных клеток [3].

*Clostridium botulinum*, например, обладает способностью расти при температуре между 3,3 °C и 45 °C в вакуум-упакованных продуктах [23,24,25], причем некоторые непротеолитические штаммы *C. botulinum* могут вырабатывать нейротоксин даже при температуре 3,3 °C при продолжительном хранении [23]. Другими представляющими опасность для здоровья спорообразующими микроорганизмами являются *Bacillus cereus*, вырабатывающий энтеротоксины и рвотный токсин, вызывая диарейный и рвотный синдромы, соответственно [26], а также *Clostridium perfringens*, который также способен вырабатывать энтеротоксин в желудочно-кишечном тракте человека, приводя к пищевым отравлениям [3].

Кроме того, в продуктах су-вид могут представлять опасность для здоровья человека и неспорообразующие патогенные бактерии, в частности, *Listeria monocytogenes*. *L. monocytogenes* — один из наиболее важных с точки зрения здравоохранения неспорообразующих микроорганизмов, контактирующих готовые к употреблению охлажденные пищевые продукты [27] и считается одним из основных критериев безопасности мясных продуктов [28], что связано с его способностью расти при низких положительных температурах [11,24,27,28] в различных пищевых продуктах (включая те, которые содержат хлорид натрия или нитрат натрия в качестве консервантов) и в течение длительного времени колонизировать производственную среду пищевых предприятий [27].

При оценке микробиологического риска продуктов су-вид также необходимо принимать во внимание такие патогены, как *Salmonella* spp., *Staphylococcus aureus*, *Yersinia enterocolitica*, *Vibrio* spp. (в морепродуктах), патогенные штаммы *Escherichia coli* [13,24].

Как уже было отмечено выше, для обеспечения микробиологической безопасности таких продуктов огромное значение имеет адекватная термическая обработка в течение строго определенного периода времени в соответствии с типом вырабатываемого продукта и видом микроорганизмов. Так, например, было установлено, что значение D для вегетативных клеток *C. perfringens* в свином закусочном русле было 16,3 мин. при 55 °C; 8,5 мин. при 60 °C и 0,8 мин. при 65 °C, а для спор 30,6 мин. при 90 °C; 9,7 мин. при 95 °C и 1,9 мин. при 100 °C. Значение D для вегетативных клеток *B. cereus* было в диапазоне от 1 мин. (60 °C) до 33,2 мин. (50 °C), а для спор от 2,0 мин. (95 °C) до 29,5 мин. (85 °C) [29]. В вакуум-упакованном курином мясе су-вид для достижения количества клеток ниже предела обнаружения была необходима термообработка при 55 °C в течение 40 мин., при 60 °C в течение 20 мин., при 65 °C в течение 2,5 мин. для *Salmonella Enteritidis* ATCC-13076 и термообработка при 55 °C в течение 60 мин., при 60 °C в течение 30 мин, при 65 °C в течение 3 мин. для штамма *Clostridium perfringens* NCAIM B01417<sup>T</sup> [30].

При условии соблюдения разработанных и научно-обоснованных режимов производства возможно обеспечение микробиологической безопасности продуктов су-вид в течение более длительного времени по сравнению с другими методами [7], что, не в последнюю очередь, обусловлено предотвращением повторной контаминации микроорганизмами продукта после обработки благодаря предварительной герметичной упаковке [10]. Многочисленные исследования подтверждают, что обработка методом су-вид позволяла эффективно ингибировать рост бактерий и получать продукты, которые по микробиологическим показателям не уступали традиционным. Так, исследование нескольких видов мясных продуктов су-вид (мясные фрикадельки, свиные ребрышки, бараньи ребрышки, бифштроганов, гамбургеры, жареная свинина, тушеное мясо и др.), подвергнутых обработке су-вид при температурах от 85 до 100 °C в течение 10–60 мин., показало отсутствие или низкие количества психротрофных, токсигенных штаммов *Bacillus* и *Clostridium* в процессе хранения при низких положительных температурах [31].

При обработке методом су-вид баранины с исходной микробиологической обсемененностью, не превышавшей уровня, указанные в Регламенте ЕС 2073/2005 [32], количества психротрофных бактерий, молочнокислых бактерий, грамположительных кокков, *Enterobacteriaceae* и колиформ снижались более, чем в 3 раза [14].

Обработка донер-кебабов методом су-вид при 70 °C в течение 2 мин. после достижения температуры в центре продукта 70 °C приводила к снижению приблизительно на 1 log КОЕ/г общего количества аэробных мезофильных бактерий, аэробных психрофильных бактерий, молочнокислых бактерий, дрожжей и плесеней [19].

В свиной корейке после обработки методом су-вид при поддержании температуры внутри продукта 70 °C в течение 11 ч с последующим охлаждением при 3 °C, количества психротрофов, *Enterobacteriaceae*, молочнокислых бактерий, дрожжей и плесеней оставались низкими на протяжении всего периода холодильного хранения при 2 °C. Интересно отметить, что в данном продукте органолептическая порча предшествовала микробиологической [13].

Результаты микробиологического анализа фрикаделек из мяса кур, обработанных методом су-вид (90 °C в течение 10 или 20 мин.) показали отсутствие *Listeria* spp. и *Cl. perfringens* в процессе холодильного хранения [1].

Не наблюдали роста *C. perfringens* и в процессе хранения при низких положительных температурах корейского традиционного продукта «Galbijjim» (реберный край говяжьей грудинки, маринованной в соевом соусе и с овощами), обработанного с применением технологии су-вид при 90 °C в течение 90 мин. [3].

В куриной грудке, изготовленной методом су-вид с тепловой обработкой при 61 °C в течение 35 мин. (после достижения температуры в центре продукта 61 °C) отмечено снижение общих количеств жизнеспособных микроорганизмов и колиформ в процессе хранения при 4 °C в течение 14 дней [20].

Приемлемые микробиологические показатели продукта были достигнуты даже при применении более низких температур тепловой обработки в трехэтапном методе су-вид (39 °C — 1 ч, 49 °C — 1 ч и 59 °C — 4 ч). Снижение естественной микрофлоры на говядине было сопоставимо с таковым при использовании обычного одноэтапного метода су-вид [33].

При обсуждении вопроса микробиологической безопасности продуктов, при производстве которых применяется технология су-вид, хотелось бы подчеркнуть необходимость применения концепции НАССР с использованием таких критических контрольных точек как качество сырья, герметичность упаковки, температурно-временные режимы термообработки, и, конечно же, соответствующая температура на протяжении всей холодильной цепи от производителя до потребителя [31], так как хранение при температуре менее 3 °C препятствует росту патогенных бактерий в пищевых продуктах су-вид на основе мяса [13].

Микробиологические показатели продуктов су-вид могут быть дополнительно улучшены, используя концепцию барьера технологию, разработанной Л. Лайнером [34]. Технология су-вид, в целом, полага-

ется на два основных барьера для обеспечения микробиологической безопасности продукта: применение нагревания при пастеризации продукта с последующим быстрым охлаждением до температуры ниже 3 °C и холодильным хранением [35]. Мульти-барьерный подход, который является наиболее надежным для контроля микробиологического роста и обеспечивает минимальное снижение качества пищевых продуктов [34], может эффективно применяться для усиления этих двух барьеров за счет применения консервантов, ингибирующих рост пищевых патогенов, как например, лактат натрия, который используется при производстве мясных продуктов и продуктов из мяса птицы. Так, применение 2,4% лактата натрия при изготовлении продуктов, обработанных методом су-вид, ингибировало рост *Listeria monocytogenes*. Хотелось бы отметить, однако, что в более высоких дозах лактат натрия приводил к соленому вкусу продукта [35].

Вместе с тем, увеличивающийся потребительский спрос на «натуральные» минимально обработанные продукты с «натуральными» добавками, делает особенно актуальными исследования по применению консервантов растительного происхождения в продуктах су-вид.

В ряде работ была продемонстрирована эффективность применения натуральных добавок для повышения микробиологической безопасности продуктов. Так, добавление препарата Citricidal® (экстракт грейпфрута) в маринованные продукты из мяса птицы, подвергнутые обработке методом су-вид, приводило

к снижению роста *Clostridium perfringens* без заметного влияния на цвет, усилие среза или окисление липидов [4]. В говядине, обработанной методом су-вид (55 °C/65 мин.), отмечено снижение количеств *L. monocytogenes* в процессе холодильного хранения при добавлении эфирного масла розмарина в качестве натурального консерванта [36]. Интересно отметить, что наряду с антимикробным эффектом розмарин обладает и антиоксидантным действием, что было продемонстрировано при разработке технологии су-вид для колбас из мяса птицы с использованием смеси фенольных дитерпенов розмарина, содержащей карнозиновую кислоту и карнозол, в качестве источника натуральных антиоксидантов для удлинения продолжительности холодильного хранения продукта [37]. Применение лимонного сока удлиняло срок хранения мерланга, обработанного методом су-вид (70 °C/10 мин.) и хранившегося при 4 °C [38].

Таким образом, технология су-вид предлагает решение многих проблем, стоящих перед пищевой промышленностью, позволяя вырабатывать безопасные с микробиологической точки зрения и высококачественные минимально обработанные готовые к употреблению пищевые продукты с сохранением нутриентов и пониженным содержанием соли при надлежащем мониторинге критических параметров производства на протяжении всего процесса производства и хранения с применением концепции HACCP и дополнительной обработки с использованием натуральных антимикробных средств.

Several studies have proved that nutritionally balanced diets and nutrition quality affect health maintenance, job performance, mental development and an increase in life duration, which underlies the concept of well-balanced nutrition. In this connection, there is a growing demand for functional foods that facilitate an increase in the organism resistance to unfavorable environmental factors, as well as for minimally processed foods that undergo mild technological processing, do not contain synthetic food additives or contain them in a lesser amount [1,2].

In addition, changes in life style, an increase in the number of women having full-time jobs and the elderly predetermine a growth in the demand for semi-prepared products and ready-to-eat foods, which leads to an expansion of the convenience food market. Recently, the market of ready-to-eat (RTE), ready-to-heat (RTH) and ready-to-cook (RTC) meat-based meals has been dynamically growing [3].

These trends stimulate the development of ready-to eat (RTE) refrigerated foods produced by the technologies of low temperature heat treatment with preliminary vacuum packaging of a semi-prepared product in the polymer package, which allows producing products that are convenient for consumers due to simplicity and quickness of

preparation, retain the desired taste, aroma, color and texture being at the same time chemically and microbiologically safe [2,4].

One of the types of minimal processing is sous vide, which translates from French as «under vacuum» [5]. There are different opinions about the beginning of the use of this technology. Some authors believe that sous vide appeared at the end of the 1960s, when the French and American engineers used vacuum packaging for sealing and pasteurization of industrial foods to prolong their shelf life [6]. Others state that the sous vide system was developed in the middle of the 1970s in France [7,8,9] and used by French cooker George Pralus to reduce losses in goose liver, which were 40 % when using the traditional methods due to its high fat content. The use of sous vide with heat treatment at lower and strictly controlled temperature allowed reducing losses up to 5 % with simultaneous significant improvements in finished product flavor [10].

The possibilities of sous vide regarding an extension of shelf life of minimally processed foods have been extensively studied since the 1990s [11] in order to achieve two conflicting requirements: minimal heating to preserve healthy components of a product and prolonged storage duration [5,8,12].

Sous vide — is a process of thermal treatment of raw material hermetically packaged in thermally stable packages under vacuum, which is performed at strictly controlled mild temperatures (usually 65–95 °C) during long time with following quick chilling, as a rule, until reaching a temperature of 3 °C in the product center [13,14] or in some cases freezing [11]) and storage at low temperatures (0–3 °C in case of chilled foods) [7,11,15]. The strict temperature control ensures good reproducibility and higher control of readiness compared to tradition thermal treatment methods [11].

Sous vide can provide advantages in solving many problems and tasks facing food industry and big catering enterprises upon food production and transportation over long distances [10].

Hermetic sealing under vacuum allows effective heat transfer from water (steam) into food [15]. Thermal treatment of foods at optimal core temperatures eliminates an excessive product heating, and a desired degree of readiness can be achieved throughout the whole meat product ensuring more stable quality [10].

In addition, vacuum packaging and, consequently, removal of oxygen from the product environment lead to a decrease in product oxidation, losses of moisture and volatile flavor substances, as well as to a reduction in the required amount of salt, species and herbs as their effects in the conditions of sous vide treatment are enhanced. Sous vide allows preservation of vitamins and minerals inside a product upon treatment, which makes a product more nutritious [10]. The sous vide system results in higher yield and better texture of meat products, for example prepared from beef, compared to traditional treatment [16].

Moreover, this technology results in an improvement of meat product sensory properties, which play an important role in consumer purchase decisions.

It is known that meat is an important part of the human diet over thousands of years. However, in recent decades, significant changes in meat quality have occurred. Today, meat including poultry meat comes from younger and less fatty animals [11,17]. Traditional heat treatment methods used in processing of such meat often lead to dry and tasteless products [11]. To make natural meat-based foods, for example, products from poultry meat, juicier and more tender, cooking temperature should not be higher than 60–65 °C [17], which can be provided by the sous vide technology. Long-term heating at lower temperatures compared to those that are used for conventional foods results in meat tenderization, and facilitates production of particularly tasty and nutritious products even from cheaper cuts [7,10,15,18].

It is suggested that long processing time facilitates higher collagen solubilization, and, consequently, reduction of meat toughness. In addition, meat thermal treatment at these mild temperatures leads to lower coagulation of myofibrillar proteins, which occurs for most proteins of this type at temperatures higher than 70–80 °C. Obvious-

ly, this is very important for meat texture as myofibrillar protein coagulation is regarded as one of the reasons of an increase in meat toughness during cooking. For example, pork cheeks processed by the sous vide method at a temperature of 80 °C for a long period of time were less tough than a conventionally cooked product [18].

In the Spanish study, the expediency of using sous vide cooking for manufacturing foods from lamb meat was established. The lamb meat sector traditionally is a basic element of the economy in several Spanish regions. However, during the last 10–20 years, a decrease in the per capita consumption of lamb meat has been observed, which is, to a large extent, conditioned by the methods of its preparation according to the traditional recipes. Production of ready-to-eat meals from lamb meat using sous vide cooking is a promising alternative to the conventional methods of its production for successful commercialization of this meat type [14].

Another example of the possible use of the sous vide technology when manufacturing national meat products is production of doners for retail sale. Doner is a traditional Turkish meat product, which is widely consumed not only in Turkey, but also in Germany, Greece, UK, USA, Canada, Pakistan and Saudi Arabia [19]. At present, doners are packed after thermal treatment and sold frozen or chilled. Processing of doners by the sous vide technology can be considered a new method for production and packaging of this product with a significant improvement of product sensory characteristics such as odor, taste, tenderness and juiciness compared to the conventional technology [19].

Sous vide cooking can also be successfully used in manufacturing products from poultry meat, for example, to improve their sensory characteristics ensuring production of foods with acceptable juiciness, flavor, color and texture [8,20].

Taking into consideration the above-mentioned, it is not surprising that this technology is widely used in restaurants, catering enterprises and ready-to-eat industry [14,20] for processing various types of foods, including meat from different animals, as it allows preparation of practically any meat cut in such a way that becomes juicy, tender and tasty [11].

However, it is necessary to emphasize that manufacture of products with high nutritional and sensory properties, undoubtedly, should not be accompanied with impairment of their microbiological safety.

Relatively low heat processing temperatures and long-term refrigerated storage of sous vide products, inadequate temperature control in production and throughout the cold chain from distribution to retail sale [4,21] can create conditions for development of both pathogens and spoilage microorganisms such as lactic acid bacteria (*Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Weissella* and *Carnobacterium*), which lead to off-flavor, slimy milky exudates and CO<sub>2</sub> production, as well as yeasts and molds [12,13,22].

Among pathogens, the most important in sous vide meat products, certainly, are spore-forming microorganisms. Mild heat treatment applied to sous vide foods results, as a rule, in destruction of the vegetative bacterial cells, but their spores are thermally stable. Upon inadequate chilling or abuses in storage temperature regimes, there is a possibility for germination of activated spores with the following multiplication of the vegetative cells [3].

For example, *Clostridium botulinum* has an ability to grow in vacuum-packed products in the temperature range from 3.3 °C and 45 °C [23,24,25]; with that, some non-proteolytic *C. botulinum* strains can form the neurotoxin even at a temperature of 3.3 °C during prolonged storage [23]. Other hazardous spore-forming microorganisms are *Bacillus cereus*, which produces enterotoxins and the emetic toxin causing diarrheal-type syndrome and the emetic-type syndrome, respectively [26], as well as *Clostridium perfringens*, which can also produce the enterotoxin in the human gastrointestinal tract causing food poisoning [3].

In addition, non-spore-forming bacterial pathogens, such as *Listeria monocytogenes*, in sous vide products can also constitute a serious hazard for human health. *L. monocytogenes* is one of the most important non-spore-forming microorganisms that contaminate ready-to-eat refrigerated foods [27] and is regarded as one of the main criteria of meat product safety [28], which is associated with its ability to grow at low temperatures [11,24,27,28] in different food products, including those that contain sodium chloride or sodium nitrate as a preservative, and colonize food production environment for long periods [27].

When assessing the microbiological risks in sous vide products, it is also necessary to take into consideration such pathogens as *Salmonella* spp., *Staphylococcus aureus*, *Yersinia enterocolitica*, *Vibrio* spp. (in seafood) and pathogenic strains of *Escherichia coli* [13,24].

As was already noticed above, adequate thermal treatment of sous vide products during strictly determined time and according to a manufactured product type and microbial species is of great importance for assurance of their microbiological quality. For example, it was established that in pork luncheon roll the D value for *C. perfringens* was 16.3 min. at 55 °C; 8.5 min. at 60 °C and 0.8 min. at 65 °C for the vegetative cells; and 30.6 min. at 90 °C; 9.7 min. at 95 °C and 1.9 min. at 100 °C for spores. The D value for the vegetative cells of *B. cereus* was in a range from 1 min. (60 °C) to 33.2 min. (50 °C), and for spores from 2.0 min. (95 °C) to 29.5 min. (85 °C) [29]. To achieve the cell number lower than the limit of detection in sous vide chicken meat, it was necessary to use thermal treatment at 55 °C during 40 min., at 60 °C during 20 min., at 65 °C during 2.5 min. for *Salmonella Enteritidis* ATCC-13076 and thermal treatment at 55 °C during 60 min., at 60 °C during 30 min., at 65 °C during 3 min. for *Clostridium perfringens* NCAIM B01417<sup>T</sup> [30].

Provided that there is a strict adherence to the developed and scientifically substantiated production regimes,

it is possible to ensure microbiological safety of sous vide products over longer time compared to other methods [7], not least because of prevention of microbial recontamination after thermal treatment due to preliminary hermetic packaging [10]. Many studies confirm that sous vide processing allowed effective inhibition of bacterial growth and manufacture of products that were not inferior to the traditional in terms of microbiological indicators. For example, analysis of several meat product types (meat balls, ribs of pork, spareribs of lamb, beef stroganoff, hamburgers, fried pork, stew of meat and others) processed by sous vide at temperatures from 85 to 100 °C during 10–60 min. showed an absence or low numbers of psychrotrophic, toxigenic *Bacillus* and *Clostridium* strains in the process of storage at low temperatures [31].

When using the sous vide method in processing lamb meat with the initial microbial load not higher than the level indicated in the Regulation EC 2073/2005 [32], the number of psychrotrophic bacteria, lactic acid bacteria, gram-positive cocci, *Enterobacteriaceae* and coliforms decreased more than threefold [14].

Production of doners by the sous vide technology at a temperature of 70 °C for 2 min. after achieving the core temperature of 70 °C led to a reduction by about 1 log CFU/g of the total number of mesophilic aerobic bacteria, psychrophilic aerobic bacteria, lactic acid bacteria, yeasts and molds [19].

In pork loin processed by sous vide at a core temperature of 70 °C during 11 hours with the following chilling at 3 °C, the numbers of psychrotrophs, *Enterobacteriaceae*, lactic acid bacteria, yeasts and molds remained to be low throughout refrigerated storage at 2 °C. It is interesting to note that in this product, sensory spoilage preceded microbiological [13].

The results of the microbiological analysis of chicken meat balls cooked using sous vide treatment (90 °C for 10 or 20 min.) showed an absence of *Listeria* spp. and *C. perfringens* during refrigerated storage [1].

The growth of *C. perfringens* was not observed during refrigerated storage of the Korean traditional product «Galbijim» (beef short ribs marinated in soy sauce and cooked with vegetables) after its processing by sous vide technology at 90 °C for 90 min. [3].

In chicken meat processed by sous vide method with thermal treatment at 61 °C for 35 min. (after achieving the core temperature of 61 °C), a decrease in the total number of viable microorganisms and coliforms was observed in the process of storage at 4 °C for 14 days [20].

Acceptable microbiological quality of a product was achieved even at low temperatures of thermal treatment when using the three-step sous vide process (39 °C — 1 hour, 49 °C — 1 hour and 59 °C — 4 hours). A decrease in the natural microflora on beef when using the three-step sous vide method was comparable to that in a product treated by the conventional single-stage sous vide technology [33].

When discussing the microbiological safety of food products manufactured by the sous-vide technology, it is worth emphasizing the necessity of using the HACCP concept with such critical control points as raw material quality, hermetic sealing of a package, temperature-time regimes of thermal treatment and, of course, adequate temperature regimes throughout the entire cold chain from production to consumers [31] as storage at temperatures lower than 3°C prevents the growth of pathogenic bacteria in sous vide meat-based foods [13].

The microbiological quality of sous vide products can be additionally improved using the concept of the hurdle technology proposed by L. Leistner [34]. The sous vide technology, largely, relies on two main hurdles to ensure microbiological safety: the use of heating upon product pasteurization with the following quick chilling to a temperature lower than 3°C and refrigerated storage [35]. The multi-hurdle approach, which is most reliable for controlling the microbial growth and ensures a minimal decrease in food quality [34], can be effectively applied to enhance these two hurdles due to the use of preservatives inhibiting the growth of food pathogens, such as sodium lactate, which is applied in manufacturing meat products and products from poultry. For example, the use of 2.4% sodium lactate in sous-vide products inhibited the growth of *Listeria monocytogenes*. It is necessary to note, however, that the higher doses of sodium lactate led to salty taste of products [35].

At the same time, an increasing consumer demand for «natural» minimally processed foods with «natural» addi-

tives, makes the studies on the use of the plant-derived preservatives in sous-vide products especially topical.

Several works demonstrated the effectiveness of the use of natural additives to increase microbiological safety of foods. For example, addition of Citricidal® (grapefruit extract) into sous vide marinated poultry products reduced the growth of *Clostridium perfringens* without noticeable effect on color, shear force or lipid oxidation [4]. In beef subjected to sous vide treatment (55°C/65 min.), the counts of *L. monocytogenes* decreased during refrigerated storage upon addition of rosemary essential oil as a natural preservative [36]. It is interesting to note that along with the antimicrobial effect, rosemary has the antioxidant activity, which was demonstrated in the development of the sous vide technology for poultry sausages with the use of rosemary diterpene mixture containing carnosic acid and carnosol as a source of a natural antioxidant to prolong duration of product refrigerated storage [37]. The use of lemon juice for treatment of whiting (*Merelangius merlangus euxinus*), which was produced by the sous vide method (70°C/10 min.) and stored at 4°C, extended its shelf life [38].

Therefore, the sous vide technology provides a solution to many problems facing food industry allowing production of microbiologically safe and high-quality minimally processed ready-to-eat products with preserved nutrients and lowered salt content provided that there is adequate monitoring of the critical production parameters throughout the manufacturing process and storage with the use of the HACCP concept and additional treatment with natural antimicrobial substances.

## БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Can, Op., Harun F. (2015). Shelf Life of Chicken Meat Balls Submitted to Sous Vide Treatment. *Brazilian Journal of Poultry Science*, 17(2), 137–144
2. Bansal V., Siddiqui M.W., Rahman Sh. (2015). Minimally Processed Foods: Overview. In *Minimally Processed Foods. Technologies for Safety, Quality, and Convenience. Chapter 1– P. 1–15*. Switzerland: Food Engineering Series, 313 pages
3. Shin W.S., Moon G. – S., Park J. – H. (2014). Growth of *Clostridium perfringens* Spores Inoculated in Sous-vide Processed Korean Traditional Galbijjim under Different Storage Conditions/ W.S. Shin, Moon G. – S., Park J. – H. *Food Science and Biotechnology*, 23(2), 505–509
4. Juneja V. K., Fan X., Pena-Ramos A., Diaz-Cinco M., Pacheco-Aguilar R. (2006). The effect of grapefruit extract and temperature abuse on growth of *Clostridium perfringens* from spore inocula in marinated, sous-vide chicken products. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 7, 100–106
5. Sous vide. Food safety precautions for restaurants. NSW/FA/CP058/1207. [Electronic resource [http://www.foodauthority.nsw.gov.au/\\_Documents/scienceandtechnical/sous\\_vide\\_food\\_safety\\_precautions.pdf/](http://www.foodauthority.nsw.gov.au/_Documents/scienceandtechnical/sous_vide_food_safety_precautions.pdf/) Access date 16.02.2018]
6. Hesser, A. Under Pressure. New York Times. — August. 14, 2005. [Electronic resource <http://www.nytimes.com/2005/08/14/magazine/under-pressure.html?mcubz=1/> Access date 16.02.2018]
7. Rinaldi M., Dall'Asta Ch., Meli F.A., Morini E., Pellegrini N., Gatti M., Chiavaro E. (2013). Physicochemical and Microbiological Quality of Sous-Vide-Processed Carrots and Brussels Sprouts. *Food and Bioprocess Technology*, 6, 3076–3087
8. Ramane K., Galoburda R., Murniecie I., Dukalska L. (2010). Physical-chemical evaluation of sous vide cooked parents stock hen and broiler breast meat during refrigerated storage. In *Research for Rural Development 2010: Annual 16th International scientific conference, Jelgava, Latvia, 1, 159–162, Jelgava, Latvia University of Agriculture*
9. Tansey F.S. (2005). Sous Vide. Freezing Technology for Ready Meals/ Gormley T.R. In *Novel Food Processing Technologies*. Edited by Gustavo V. Barbosa-Canovas, Maria S. Tapia, M. Pilar Cano. — CRC Press, 720 pages, Chapter 22. P. 477–490.
10. Hoeche U. (2016). The Sous Vide Revolution: Coming Full Circle and Beyond. Dublin Gastronomy Symposium. *Food and Revolution*, 109–114
11. Baldwin, D. E. (2012). Sous vide cooking: A review. *International Journal of Gastronomy and Food Science*, 1, 15–30
12. Wang, S. H., Chang M. J., Chen T. C. (2004). Shelf-life and microbiological profiler of chicken wing products following sous vide treatment. *International Journal of Poultry Science*, 3 (5), 326–332
13. Diaz P., Nieto G., Garrido M. D., Banon S. (2008). Microbial, physical-chemical and sensory spoilage during the refrigerated storage of cooked pork loin processed by the sous vide method. *Meat Science*, 80, 287–292
14. Roldan M., Antequera T., Martin A., Mayoral A. I., Ruiz J. (2013). Effect of different temperature-time combinations on physicochemical, microbiological, textural and structural features of sous-vide cooked lamb loins. *Meat Science*, 93, 572–578
15. Remya, S., Mohan C.O., Ravishankar C.N., Srinivasa Gopal T.K., Venkateshwarlu G. (2015). Want to keep your fish fresh longer? Adopt Reduced Oxygen Packaging (ROP) Technologies. *Fishing Chimes*. 34 (11), 49–52
16. Fabiane de Moraes. (2016). Sous vide of bovine meat (muscle semitendinosus): effects of processing conditions and comparison with cook chill and conventional systems/Theses of Doctoral Dissertation. — Campinas, [Electronic resource <http://repositorio.unicamp.br/jspui/handle/REPOSIP/321384/> Access date 16.02.2018]

17. Soletska A., Krasota A. (2015). Prospects of applying vacuum technology in the manufacture of culinary poultry meat products. *Food and Environment Safety*, XV(1), 3–9
18. Pulgar J.S., Gazquez A., Ruiz-Carrascal J. (2012). Physicochemical, textural and structural characteristics of sous-vide cooked pork cheeks as affected by vacuum, cooking temperature, and cooking time. *Meat Science*, 90, 828–835
19. Soncu E. D., Haskaraca G., Kolsarici N. (2016). Microbiological, physicochemical, and sensorial characteristics of sous vide «Doner». 62 International Congress of Meat Science and Technology, 14–19 August 2016, Bangkok, Thailand, P 09–38
20. Hong G.E. (2015). Changes in Meat Quality Characteristics of the Sous-vide Cooked Chicken Breast during Refrigerated Storage/ Kim J.H., Ahn S.J., Lee C. – H. // *Korean Journal for Food Science of Animal Resources*, 35(6), 757–764
21. Hyttiä-Trees E., Skyttä E., Mokkila M., Kinnunen A., Lindström M., Lähteenmäki L., Ahvenainen R., Korkeala H. (2000). Safety Evaluation of Sous Vide-Processed Products with Respect to Non-proteolytic *Clostridium botulinum* by Use of Challenge Studies and Predictive Microbiological Models. *Applied And Environmental Microbiology*, 66(1), 223–229
22. Nyati, H. (2000). An evaluation of the effect of storage and processing temperatures on the microbiological status of sous vide extended shelf life products. *Food Control*, 11(6), 471–476
23. Marth E. H. (1998). Extended Shelf Life Refrigerated Foods: Microbiological Quality and Safety. *Food Technology*, 52 (2), 57–62
24. Guidelines for restaurant sous vide cooking safety in British Columbia. (2016). Prepared by the Sous Vide Working Group, BC Centre for Disease Control. [Electronic resource [http://www.bccdc.ca/resource-gallery/Documents/Guidelines%20and%20Forms/Guidelines%20and%20Manuals/EH/FPS/Food/SVGuidelines\\_FinalforWeb.pdf](http://www.bccdc.ca/resource-gallery/Documents/Guidelines%20and%20Forms/Guidelines%20and%20Manuals/EH/FPS/Food/SVGuidelines_FinalforWeb.pdf) / Access date 16.02.18]
25. Borch, E., Arinder P. (2002). Bacteriological safety issues in red meat and ready-to-eat meat products, as well as control measures. *Meat Science*, 62, 381–390
26. Logan Niall A., De Vos Paul Bacillus. (2015). Bergey's Manual of Systematics of Archaea and Bacteria, Online © 2015 Bergey's Manual Trust. DOI: 10.1002/9781118960608.gbm00530. Published by John Wiley & Sons, Inc., in association with Bergey's Manual Trust Electronic resource <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/9781118960608.gbm00530/pdf> Access date 16.02.18]
27. McLauchlin J., Rees Catherine E. D. (2015). Listeria // Bergey's Manual of Systematics of Archaea and Bacteria, Online ©
- 2015 Bergey's Manual Trust. DOI: 10.1002/9781118960608. gbm00547. Published by John Wiley & Sons, Inc., in association with Bergey's Manual Trust.
28. Костенко, Ю.Г. (2015). Руководство по санитарно-микробиологическим основам и предупреждению рисков при производстве и хранении мясной продукции. М, ТЕХНОСФЕРА.— 640 с. ISBN: 978-5-94836-418-6
29. Byrne B., Dunne G., Bolton D.J. (2006). Thermal inactivation of *Bacillus cereus* and *Clostridium perfringens* vegetative cells and spores in pork luncheon roll. *Food Microbiology*, 23, 803–808
30. Vajda K. (2015). Enhancement of the microbiological quality of sous-vide cook-chill food preservation system. Theses of Doctoral (PhD) Dissertation. — Mosonmagyarovar,— 16 p.
31. Nissen H., Rosnes J.T., Bredehaugand J., Kleiberg G.H. (2002). Safety evaluation of sous vide-processed ready meals. *Letters in Applied Microbiology*, 35, 433–438
32. Commission Regulation (EC) No. 2073/2005 of 15 November 2005 on microbiological criteria for foodstuffs. *Official Journal of the European Union*, L 338, 1–26.
33. Wang H., Badoni M., Zawadski S., McLeod B., Uttaro B., Yang X. (2017). Effects on beef microflora of a three-step sous-vide method. 63 *International Congress of Meat Science and Technology*.— 13th – 18th August, 2017, Cork, Ireland. 484 p.
34. Leistner L. Gould G.W. (2002). Hurdle technologies: combination treatments for food stability, safety and quality. New York: Kluwer Academic. Plenum Publishers, 194 p.
35. Bolton D. J. (1998). The microbiological safety and quality of foods processed by the «sous vide» system as a method of commercial catering. Teagasc, Project Arms No. 4031, Final Report
36. Gouveia A.R., Alves M., Silva J. A., Saraiva C. (2016). The Antimicrobial Effect of Rosemary and Thyme Essential Oils Against *Listeria monocytogenes* in Sous Vide Cook-Chill Beef During Storage. *Procedia Food Science*, 7, 173–176
37. Khansole P.S. (2016). Effect of rosemary diterpene phenols on the quality and storage stability of sous vide cooked chicken sausage. *Thesis submitted to the Sri P.V.Narsimha Rao Telangana State University for Veterinary, Animal and Fishery Sciences, Hyderabad, in partial fulfillment of the requirements for the award of the degree of master of veterinary science (livestock products technology)*. Hyderabad. 161 p.
38. Cosansu S., Mol S., Alakavuk D. U., Ozturan S. (2013). The Effect of Lemon Juice on Shelf Life of Sous Vide Packaged Whiting (*Merlangius merlangus euxinus*, Nordmann, 1840). *Food and Bioprocess Technology*, 6, 283–289

## REFERENCES

1. Can, Op., Harun F. (2015). Shelf Life of Chicken Meat Balls Submitted to Sous Vide Treatment. *Brazilian Journal of Poultry Science*, 17(2), 137–144
2. Bansal V., Siddiqui M.W., Rahman Sh. (2015). Minimally Processed Foods: Overview. In Minimally Processed Foods. Technologies for Safety, Quality, and Convenience. Chapter 1– P. 1–15. Switzerland: Food Engineering Series, 313 pages
3. Shin W.S., Moon G. – S., Park J. – H. (2014). Growth of *Clostridium perfringens* Spores Inoculated in Sous-vide Processed Korean Traditional Galbijjim under Different Storage Conditions/ W.S. Shin, Moon G. – S., Park J. – H. *Food Science and Biotechnology*, 23(2), 505–509
4. Juneja V. K., Fan X., Pena-Ramos A., Diaz-Cinco M., Pacheco-Aguilar R. (2006). The effect of grapefruit extract and temperature abuse on growth of *Clostridium perfringens* from spore inocula in marinated, sous-vide chicken products. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 7, 100–106
5. Sous vide. Food safety precautions for restaurants. NSW/FA/CP058/1207. [Electronic resource [http://www.foodauthority.nsw.gov.au/\\_Documents/scienceandtechnical/sous\\_vide\\_food\\_safety\\_precautions.pdf](http://www.foodauthority.nsw.gov.au/_Documents/scienceandtechnical/sous_vide_food_safety_precautions.pdf) / Access date 16.02.2018]
6. Hesser, A. Under Pressure. New York Times. – August. 14, 2005. [Electronic resource <http://www.nytimes.com/2005/08/14/magazine/under-pressure.html?mcubz=1> / Access date 16.02.2018]
7. Rinaldi M., Dall'Asta Ch., Meli F.A., Morini E., Pellegrini N., Gatti M., Chiavarro E. (2013). Physicochemical and Microbiological Quality of Sous-Vide-Processed Carrots and Brussels Sprouts. *Food and Bioprocess Technology*, 6, 3076–3087
8. Ramane K., Galoburda R., Murniece I., Dukalska L. (2010). Physical-chemical evaluation of sous vide cooked parents stock hen and broiler breast meat during refrigerated storage. In Research for Rural Development 2010: Annual 16th International scientific conference, Jelgava, Latvia, 1, 159–162, Jelgava,: Latvia University of Agriculture
9. Tansey F.S. (2005). Sous Vide. Freezing Technology for Ready Meals/ Gormley T.R. In Novel Food Processing Technologies. Edited by Gustavo V. Barbosa-Canovas, Maria S. Tapia, M. Pilar Cano. – CRC Press, 720 pages, Chapter 22. P. 477–490.
10. Hoeche U. (2016). The Sous Vide Revolution: Coming Full Circle and Beyond. Dublin Gastronomy Symposium. *Food and Revolution*, 109–114
11. Baldwin, D. E. (2012). Sous vide cooking: A review. *International Journal of Gastronomy and Food Science*, 1, 15–30
12. Wang, S. H., Chang M. J., Chen T. C. (2004). Shelf-life and microbiological profiler of chicken wing products following sous vide treatment. *International Journal of Poultry Science*, 3 (5), 326–332
13. Diaz P., Nieto G., Garrido M. D., Banon S. (2008). Microbial, physical-chemical and sensory spoilage during the refrigerated storage of cooked pork loin processed by the sous vide method. *Meat Science*, 80, 287–292
14. Roldan M., Antequera T., Martin A., Mayoral A. I., Ruiz J. (2013). Effect of different temperature-time combinations on physicochemical, microbiological, textural and structural features of sous-vide cooked lamb loins. *Meat Science*, 93, 572–578
15. Remya, S., Mohan C.O., Ravishankar C.N., Srinivasa Gopal T.K., Venkateshwarlu G. (2015). Want to keep your fish fresh longer? Adopt Reduced Oxygen Packaging (ROP) Technologies. *Fishing Chimes*, 34 (11), 49–52
16. Fabiane de Moraes. (2016). Sous vide of bovine meat (muscle semitendinosus): effects of processing conditions and comparison with cook chill and conventional systems/Theses of Doctoral Dissertation. — Campinas, [Electronic resource <http://repositorio.unicamp.br/jspui/handle/REPOSIP/321384> / Access date 16.02.2018]
17. Soletska A., Krasota A. (2015). Prospects of applying vacuum technology in the manufacture of culinary poultry meat products. *Food and Environment Safety*, XV(1), 3–9

18. Pulgar J.S., Gazquez A., Ruiz-Carrascal J. (2012). Physicochemical, textural and structural characteristics of sous-vide cooked pork cheeks as affected by vacuum, cooking temperature, and cooking time. *Meat Science*, 90, 828–835
19. Soncu E. D., Haskaraca G., Kolsarici N. (2016). Microbiological, physicochemical, and sensorial characteristics of sous vide "Doner". 62 International Congress of Meat Science and Technology, 14–19 August 2016, Bangkok, Thailand, P 09–38
20. Hong G.E. (2015). Changes in Meat Quality Characteristics of the Sous-vide Cooked Chicken Breast during Refrigerated Storage/ Kim J.H., Ahn S.J., Lee C. – H. // *Korean Journal for Food Science of Animal Resources*, 35(6), 757–764
21. Hyttiä-Trees E., Skyttä E., Mokkila M., Kinnunen A., Lindström M., Lähteenmäki L., Ahvenainen R., Korkeala H. (2000). Safety Evaluation of Sous Vide-Processed Products with Respect to Non-proteolytic *Clostridium botulinum* by Use of Challenge Studies and Predictive Microbiological Models. *Applied And Environmental Microbiology*, 66(1), 223–229
22. Nyati, H. (2000). An evaluation of the effect of storage and processing temperatures on the microbiological status of sous vide extended shelf life products. *Food Control*, 11(6), 471–476
23. Marth E. H. (1998). Extended Shelf Life Refrigerated Foods: Microbiological Quality and Safety. *Food Technology*, 52 (2), 57–62
24. Guidelines for restaurant sous vide cooking safety in British Columbia. (2016). Prepared by the Sous Vide Working Group, BC Centre for Disease Control. [Electronic resource [http://www.bccdc.ca/resource-gallery/Documents/Guidelines%20and%20Forms/Guidelines%20and%20Manuals/EH/FPS/Food/SVGuidelines\\_FinalforWeb.pdf](http://www.bccdc.ca/resource-gallery/Documents/Guidelines%20and%20Forms/Guidelines%20and%20Manuals/EH/FPS/Food/SVGuidelines_FinalforWeb.pdf) / Access date 16.02.18]
25. Borch, E., Arinder P. (2002). Bacteriological safety issues in red meat and ready-to-eat meat products, as well as control measures. *Meat Science*, 62, 381–390
26. Logan Niall A., De Vos Paul Bacillus. (2015). Bergey's Manual of Systematics of Archaea and Bacteria, Online © 2015 Bergey's Manual Trust. DOI: 10.1002/9781118960608.gbm00530. Published by John Wiley & Sons, Inc., in association with Bergey's Manual Trust Electronic resource <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/9781118960608.gbm00530/pdf> Access date 16.02.18]
27. McLauchlin J., Rees Catherine E. D. (2015). Listeria // Bergey's Manual of Systematics of Archaea and Bacteria, Online © 2015 Bergey's Manual Trust. DOI: 10.1002/9781118960608.
- gbm00547. Published by John Wiley & Sons, Inc., in association with Bergey's Manual Trust.
28. Kostenko Yu. G. (2015). Guideline of sanitary microbiological principles and prevention of risks upon meat product production and storage. Moscow: TEKHNOSFERA.—640 p. ISBN: 978-5-94836-418-6. (in Russian).
29. Byrne B., Dunne G., Bolton D.J. (2006). Thermal inactivation of *Bacillus cereus* and *Clostridium perfringens* vegetative cells and spores in pork luncheon roll. *Food Microbiology*, 23, 803–808
30. Vajda K. (2015). Enhancement of the microbiological quality of sous-vide cook-chill food preservation system. Theses of Doctoral (PhD) Dissertation. — Mosonmagyarovar,— 16 p.
31. Nissen H., Rosnes J.T., Brendehaugand J., Kleiberg G.H. (2002). Safety evaluation of sous vide-processed ready meals. *Letters in Applied Microbiology*, 35, 433–438
32. Commission Regulation (EC) No. 2073/2005 of 15 November (2005) on microbiological criteria for foodstuffs. *Official Journal of the European Union*, L 338, 1–26.
33. Wang H., Badoni M., Zawadski S., McLeod B., Uttaro B., Yang X. (2017). Effects on beef microflora of a three-step sous-vide method. 63 International Congress of Meat Science and Technology.— 13th – 18th August, 2017, Cork, Ireland. 484 p.
34. Leistner L. Gould G.W. (2002). Hurdle technologies: combination treatments for food stability, safety and quality. New York: Kluwer Academic. Plenum Publishers, 194 p.
35. Bolton D. J. (1998). The microbiological safety and quality of foods processed by the «sous vide» system as a method of commercial catering. Teagasc, Project Armis No. 4031, Final Report
36. Gouveia A.R., Alves M., Silva J. A., Saraiva C. (2016). The Antimicrobial Effect of Rosemary and Thyme Essential Oils Against *Listeria monocytogenes* in Sous Vide Cook-Chill Beef During Storage. *Procedia Food Science*, 7, 173–176
37. Khansole P.S. (2016). Effect of rosemary diterpene phenols on the quality and storage stability of sous vide cooked chicken sausage. Thesis submitted to the Sri P.V.Narsimha Rao Telangana State University for Veterinary, Animal and Fishery Sciences, Hyderabad, in partial fulfillment of the requirements for the award of the degree of master of veterinary science (livestock products technology). Hyderabad. 161 p.
38. Cosansu S., Mol S., Alakavuk D. U., Ozturan S. (2013). The Effect of Lemon Juice on Shelf Life of Sous Vide Packaged Whiting (*Merlangius merlangus euxinus*, Nordmann, 1840). *Food and Bioprocess Technology*, 6, 283–289

## СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

### Принадлежность к организации

**Фофанова Татьяна Сергеевна** — кандидат технических наук, старший научный сотрудник, Федеральный научный центр пищевых систем им. В.М. Горбатова РАН  
109316, г. Москва, ул. Талалихина, 26  
Тел.: +7-495-676-61-01  
E-mail: t.fofanova@fncps.ru

### Критерии авторства

Автор написал рукопись и несет ответственность за plagiat

### Конфликт интересов

Автор заявляет об отсутствии конфликта интересов

Поступила 24.01.2018

## AUTHOR INFORMATION

### Affiliation

**Tatyana S. Fofanova** — candidate of technical sciences, senior research scientist, V.M. Gorbatov Federal Research Center for Food Systems of Russian Academy of Sciences  
109316, Moscow, Talalikhina str., 26  
Tel.: +7-495-676-61-01  
E-mail: t.fofanova@fncps.ru

### Contribution

The author wrote the manuscript, and is responsible for plagiarism

### Conflict of interest

The author declares no conflict of interest

Received 24.01.2018