## MINISTRY OF EDUCATION AND SCIENCE OF UKRAINE SUMY NATIONAL AGRARIAN UNIVERSITY

Qualifying scientific work on the rights of the manuscript

Gao Dan

UDC: 635.621:664.38:637.524.24:664.681.016.3

### **DISSERTATION**

# TECHNOLOGY OF PROTEIN ISOLATE PUMPKIN SEED MEAL AND FOOD PRODUCTS USING IT

Specialty 181 – Food Technology
Field of study 18 – "Production and Technology"

Submitted for a scientific degree of Doctor of Philosophy. The dissertation contains the results of own research. The use of ideas, results and texts of other authors have references to the relevant source

Gaw Dan Gao Dan

Scientific supervisor: Helikh Anna, PhD, Associate Professor

A copy of the dissertation identical in content with other copies

#### **ANNOTATION**

Gao Dan. Technology of protein isolate pumpkin seed meal and food products using it – Qualifying scientific work on the rights of manuscript. Dissertation for the degree of the Doctor of Philosophy in the specialty 181 – «Food technologies» – Sumy National Agrarian University, Sumy, 2023.

The dissertation is devoted to experimental research and its scientific confirmation, regarding the substantiation of the technology of obtaining protein isolate from pumpkin seed meal with increased protein content and high functional and technological properties using the method of alkaline extraction, the action of ultrasound, isoelectric precipitation and pH-adjusting treatment. It has been experimentally confirmed that the use of the developed protein isolate from pumpkin seed meal in the technology of meat sausages and biscuits makes it possible to increase their biological value while fully preserving the high structural-mechanical and organoleptic characteristics of these products.

In the first chapter, the existing problem of accumulation of oilseed meal waste, namely pumpkin seed meal, which contains a large amount of complete protein, and its irrational use is considered. Known methods of obtaining protein isolates from oilseed meals are summarized, their advantages and disadvantages are described. The functional properties of protein isolate, necessary for use in the food industry, are analyzed, and the product technologies in which protein isolates are most often used and for what purpose are described.

In the second chapter, the general plan of scientific research is formulated, the main direction of the dissertation work is reflected, and research materials and methods are presented. All experimental methods and equipment are described in this section. Standard and generally accepted research methods were used to study functional properties, structural properties, sensory parameters, consistency, physicochemical and microbiological analyses. Scientific mathematical and statistical methods of processing experimental results are described. The research was carried out at Hezhou University in China, Sumy National Agricultural University in Ukraine, the results of experiments are confirmed by relevant research protocols.

The third part compared the functional characteristics of four different oilseed protein isolates: peanut protein isolate, pumpkin seed meal protein isolate, sunflower seed meal protein isolate, and soy protein isolate. The results showed that different protein isolates had different functional characteristics. The foaming capacity of peanut protein isolate showed the highest value of 18.18% compared to pumpkin seed meal protein isolate (3.88%), soybean protein isolate (7.76%) and sunflower seed meal protein isolate (9.33%). The maximum value of the emulsifying ability was demonstrated by the soy protein isolate, which was 100.84  $m^2/g$ . The soaking time of 11.02 s and the fat absorption capacity of 1.34 ml/g of pumpkin seed meal protein isolate had the best indicators compared to other types of protein isolates. This makes it possible to consider the protein isolate from pumpkin seed meal as a potential additive to meat products and can improve the fat absorption properties, which in turn have the greatest impact on the taste qualities of meat products. In addition, pumpkin seed meal protein isolate does not affect the organoleptic and nutritional value of food products, as it does not contain chlorogenic acid, such as sunflower seed meal protein isolate.

The method of ultrasonic alkaline extraction and acid precipitation has been developed. To do this, a three-factor, three-level Box-Behnken design, response surface methodology was used to optimize protein isolate conditions such as sonication power, sonication time, and liquid-to-solid ratio. Appropriate statistical methods and polynomial-regression analysis of experimental data were used, which made it possible to obtain a quadratic polynomial equation. Response surfaces were used to demonstrate the effects of the interaction of independent factors on the yield of protein isolate extraction from pumpkin seed meal. In addition, it was found that the best conditions for the extraction of protein isolate from pumpkin seed meal were at an ultrasound power of 456 W, an ultrasound period of 22 min, and a liquid-to-solid ratio of 27 ml/g. These values were obtained by solving the regression equation and examining contour plots of the response surface. The results showed that the experimental value of protein isolate yield from pumpkin seed meal (80.76 g/100 g) was quite similar to the predicted

value (81.86 g/100 g). This indicates a strong agreement between the experimental value and the predicted value of the regression model. However, it will be impossible to achieve such results in industrial production, since the protein content in the meal fluctuates to a large extent and the predicted yield of protein isolate from the pumpkin meal will fluctuate within 50%-60%. Therefore, it was confirmed that the extraction conditions of protein isolate from pumpkin seed meal can be accurately predicted using the response surface equation. The possibility of using ultrasonic alkaline extraction to obtain protein isolate from pumpkin seed meal was revealed. However, this method does not significantly affect the functional properties of the protein isolate from pumpkin seed meal, and preference was given to the method of pH- shifting treatment.

Pumpkin seed meal protein isolate was subjected to a pH-adjusting treatment to improve its functional characteristics. Pumpkin seed meal protein isolate was tested at several pH levels (pH 2, pH 4, pH 6, pH 8, pH 10, and pH 12), which were designated as samples PSPI 2, PSPI 4, PSPI 6, PSPI 8, PSPI 10 and PSPI 12, respectively. The effect of pH-adjusting treatment on the solubility of PSPI samples was investigated. An increase in solubility was observed only in sample PSPI 8 (55.5%) compared to the control PSPI (45.6%), while the solubility of samples PSPI 2 (13.7%), PSPI 4 (10.8%), PSPI 10 (41.8%) and PSPI 12 (13.4%) decreased. Then the average particle size and zeta-potential of soluble protein were determined in PSPI samples followed by electrophoresis in sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gel. After the process of changing the pH, the average particle size of samples PSPI 2, PSPI 4 and PSPI 12 decreased. PSPI 2 and PSPI 12 samples had a low zeta potential. Other samples did not show a significant difference in these two indicators. In addition, an increased amount of soluble protein bands at 33 kDa and 25 kDa was detected in the PSPI 8 sample.

The influence of pH-shifting treatment on heat-induced gel characteristics of protein isolate from pumpkin seed meal was studied. In the obtained gels, the water absorption capacity was studied, textural analysis was carried out (hardness, adhesiveness and cohesion), and the state of water was determined. Compared to

the control, the water-absorbing capacity of PSPI 6 and PSPI 8 samples was significantly higher. Only the hardness of the sample PSPI 6 showed an increased value when checking the texture of the gels. The cohesiveness of PSPI samples after treatment at pH 2, pH 4, pH 6, pH 8, pH 10, and pH 12 did not change significantly compared to the control. The adhesiveness of samples PSPI 2, PSPI 4 and PSPI 10 decreased significantly, but the adhesiveness of PSPI 6, PSPI 8 and PSPI 12 samples did not change significantly compared to the control. The state of water in gels, after pH- shifting treatment, changed as a result of nuclear magnetic resonance in a low-frequency field. PSPI 4 and PSPI 6 samples had a significantly lower level of bound water compared to the control. However, samples PSPI 8, PSPI 10 and PSPI 12 had a higher level of bound water compared to the control. The immobilized water of sample PSPI 6 had a higher value compared to samples PSPI 2, PSPI 4, PSPI 8, PSPI 10, and PSPI 12. These findings suggest that pH-shifting treatment will be a practical and affordable way to modify the functional properties of protein isolate gels from pumpkin seed meal, offering fundamental insight into future uses of this isolate in food technology.

The thermal, structural and emulsifying characteristics of samples of protein isolate from pumpkin seed meal processed by the method of pH- shifting treatment were studied. The PSPI control showed denaturation temperatures of 87.67 and 104.11°C, with corresponding enthalpies of 1.66 and 0.37 J/g, according to differential scanning calorimetry analysis. Only PSPI sample 2 among other PSPI samples did not change significantly compared to the control PSPI, in terms of denaturation temperatures and enthalpies. Emulsion stability in samples PSPI 2, PSPI 4, and PSPI 12 increased by 42.32, 67.58, and 40.87%, respectively, while the emulsifying activity of PSPI 2, PSPI 4, and PSPI 12 samples increased by 205.84, 298.98 and 288.69%, respectively. The content of disulfide bonds in samples PSPI 2, PSPI 4 and PSPI 12 improved (p < 0.05) by 7.46, 9.28 and 5.01%, respectively, while the content of free sulfhydryl groups in them decreased (p < 0.05) by 36.69, 44.39, and 29.11%, respectively, which indicates that the increased emulsifying properties of samples PSPI 2, PSPI 4, and

PSPI 12 can be associated with an increase in the content of disulfide bonds and by reducing the content of free sulfhydryl groups. However, the hydrophobicity of the surface and the particle size of the PSPI samples did not correlate in any way with their emulsifying ability.

In the fourth section, a one-way test and an orthogonal test were conducted to determine the optimal formulation of cookies with pumpkin seed meal and pumpkin seed meal isolate, in which the ratio of low gluten wheat flour, pumpkin seed meal, pumpkin seed meal isolate and konjac powder was 2:1:1, the amounts of vegetable oil and butter were 4.0% and 12.0%, respectively, and the amount of maltitol was 20.0%. Nutritional analysis shows that pumpkin seed meal and pumpkin seed meal isolate cookies contain 59.2% carbohydrates, including 19.1% dietary fiber, 20.4% protein, 18.0% fat and 1.8% ashes.

With the help of orthogonal tests and univariate studies, a new recipe for meat product was created. The ideal production parameters were 1.5 g/100 g of protein isolate from pumpkin seed meal, 80 g/100 g of lean meat. The sensory evaluation of the developed meat product was 8.5 points, which was confirmed by the relevant acts of tasting. The moisture, ash, protein and fat content were 51.16 g/100 g, 2.26 g/100 g, 15.22 g/100 g and 23.15 g/100 g, respectively. This study can provide important information for the further use of pumpkin seed meal protein isolate in the technology of minced meat products such as sausages and meet-containing breads.

Degustation of biscuits and meat products with the addition of pumpkin seed meal protein isolate was carried out at Hezhou University in China. Degustation results were recorded in the relevant degustation protocols.

In the fifth chapter, the results of the practical application of the technology of protein isolate from pumpkin seed meal are presented and the socio-economic effect of the introduction of this technology into production is investigated, the cost of production is calculated, and data on the popularization of the research results are summarized. The economic feasibility of introducing the developed technologies into the practical activities of food enterprises has been proven.

**Keywords:** protein isolate, plant protein, seed flour, vegetables, pumpkin seeds, pH- shifting treatment, minced meat products, sausages, meet-containing bread, confectionery, dietary food, functional and technological properties, quality characteristics, technological indicators.

### **АНОТАЦІЯ**

Гао Дан. Технологія білкового ізоляту із шроту насіння гарбуза та харчових продуктів з його використанням. - Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису. Дисертація на здобуття наукового ступеня доктора філософії за спеціальністю 181 «Харчові технології». — Сумський національний аграрний університет, Суми, 2023.

Дисертація присвячена експериментальному дослідженню та його науковому підтвердженні, щодо обґрунтування технології одержання білкового ізоляту із шроту насіння гарбуза із підвищеним вмістом протеїну та високими функціонально-технологічними властивостями за допомогою методу лужної екстракції, дії ультразвуку, ізоелектричного осадження та рН-коригуючої обробки. Експериментально підтверджено, що використання розробленого ізоляту білка із шроту насіння гарбуза у технології м'ясних ковбас та печива дає можливість підвищити їх біологічну цінність при повному збереженні високих структурномеханічних та органолептичних характеристик даних продуктів.

У першому розділі розглянута існуюча проблема накопичення відходів шроту олійних культур, а саме шроту насіння гарбуза, що містить велику кількість повноцінного білка, і його нераціональне використання. Підсумовано відомі способи отримання білкових ізолятів з шротів олійних культур, описуються їх переваги та недоліки. Проаналізовано функціональні властивості ізоляту білка, необхідні при використанні в харчовій промисловості, і описано технології продуктів, в яких білкові ізоляти найчастіше використовуються і з якою метою.

У другому розділі сформульовано загальний план наукового дослідження, відображено основне спрямування дисертаційної роботи,

представлено матеріали та методи дослідження. У цьому розділі описані всі експериментальні методи та обладнання. Стандартні та загальноприйняті методи дослідження використовувались для вивчення функціональних властивостей, структурних властивостей, сенсорних параметрів, консистенції, фізико-хімічних і мікробіологічних аналізів. Описані наукові математико-статистичні методи обробки експериментальних результатів. Дослідження проводились в Університеті Хечжоу в Китаї, Сумському національному аграрному університеті в Україні, результати експериментів підтверджені відповідними протоколами досліджень.

У третій частині було порівняно функціональні характеристики чотирьох різних ізолятів білка олійних культур: ізоляту білка арахісу, ізоляту білка із шроту насіння гарбуза, ізоляту білка із шроту насіння соняшнику та ізоляту білка сої. Результати показали, що різні ізоляти білка мали різні функціональні характеристики. Піноутворююча здатність ізоляту білка арахісу показала найбільше значення 18,18% порівняно з ізолятом білка із шроту насіння гарбуза (3,88%), ізолятом білка сої (7,76%) та ізолятом білка із шроту насіння соняшнику (9,33%). Максимальне значення емульгуючої здатності продемонстрував ізолят білка сої, що склало 100,84  $M^2/\Gamma$ . Час змочування, що склав 11,02 с і жиропоглинаюча здатністю 1,34 мл/г ізоляту білка із шроту насіння гарбуза мали найкращі показники у порівнянні із іншими видами ізолятів білка. Це дає можливість розглядати ізолят білка із шроту насіння гарбуза у якості потенційної добавки до м'ясних продуктів і може покращити жиропоглинаючі властивості, що в свою чергу найбільше впливають на смакові якості м'ясних продуктів. Крім того, ізолят білка із шроту насіння гарбуза не впливає на органолептичну та поживну цінність харчових продуктів, оскільки не містить хлорогенової кислоти, як наприклад, ізолят білка шроту насіння соняшника.

Розроблено методику ультразвукової лужної екстракції та кислотного осадження. Для цього використовували трифакторний, трирівневий дизайн Вох-Веhnken, методологію поверхні відгуку для оптимізації умов

ізоляту білка, потужність, отримання таких ЯК ультразвукова ультразвуковий час і співвідношення рідини до твердої речовини. Використані належні статистичні методи та поліноміально-регресійний аналіз експериментальних даних, що дали можливість отримати квадратне поліноміальне рівняння. Для демонстрації ефектів взаємодії незалежних факторів на вихід екстракції ізоляту білка із шроту насіння гарбуза використовували поверхні відгуку. Крім того, було встановлено, що найкращі умови екстракції ізоляту білка із шроту насіння гарбуза були при потужності ультразвуку 456 Вт, періоді ультразвуку 22 хв і співвідношенні рідини до твердої речовини 27 мл/г. Ці значення були досягнуті шляхом розв'язання рівняння регресії та дослідження контурних графіків поверхні відгуку. Результати показали, що експериментальне значення виходу ізоляту білка із шроту насіння гарбуза (80,76 г/100 г) було досить подібним до прогнозованого значення (81,86 г/100 г). Це вказує на сильну відповідність між експериментальним значенням і прогнозованим значенням регресійної моделі. Однак, досягти таких результатів при промисловому виробництві буде неможливо, тому що вміст білка в шроті коливається великою мірою і прогнозований вихід білкового ізоляту зі шроту гарбуза коливатиметься в межах 50%-60%. Тому було підтверджено, що умови екстракції ізоляту білка із шроту насіння гарбуза можна точно передбачити за допомогою рівняння поверхні відгуку. Виявлено можливість використання ультразвукової лужної екстракції для отримання ізоляту білка із шроту насіння гарбуза. Проте, цей метод не впливає у значній мірі на функціональні властивості ізоляту білка із шроту насіння гарбуза і перевагу було надано методу рН-коригуючої обробки.

Ізолят білка із шроту насіння гарбуза був підданий рН-коригуючій обробці для покращення його функціональних характеристик. Ізолят білка із шроту насіння гарбуза досліджували на кількох рівнях рН (рН 2, рН 4, рН 6, рН 8, рН 10 та рН 12), які позначалися як зразки ІБНГ 2, ІБНГ 4, ІБНГ 6, ІБНГ 8, ІБНГ 10 та ІБНГ 12 відповідно. Було досліджено вплив рН-

коригуючої обробки на розчинність зразки ІБНГ. Збільшення розчинності спостерігалось лише у зразка ІБНГ 8 (55,5 %) порівняно з контрольним ІБНГ (45,6 %), тоді як розчинність зразків ІБНГ 2 (13,7 %), ІБНГ 4 (10,8 %), ІБНГ 10 (41,8 %) та ІБНГ 12 (13,4%) знизилась. Потім визначали середній розмір частинок і дзета-потенціал розчинного білка у зразках ІБНГ з подальшим електрофорезом у поліакриламідному гелі додецилсульфату натрію. Після процесу зміни рН середній розмір частинок зразків ІБНГ 2, ІБНГ 4 і ІБНГ 12 зменшився. Низький дзета-потенціал мали зразки ІБНГ 2 і ІБНГ 12. Інші зразки не показали істотної різниці в цих двох показниках. Крім того, було виявлено підвищену кількість смуг розчинного білка при 33 кДа та 25 кДа у зразку ІБНГ 8.

Було вивчено вплив рН-коригуючої обробки на теплоіндуковані характеристики гелю ізоляту білка із шроту насіння гарбуза. У отриманих гелях досліджували водопоглинаючу здатність, проводили текстурний аналіз (твердість, адгезивність і когезійність), а також визначали стан води. Порівняно з контролем водопоглинаюча здатність зразків ІБНГ 6 та ІБНГ 8 була значно вищою. Лише твердість зразка ІБНГ 6 показала підвищене значення при перевірці текстури гелів. Когезивність зразків ІБНГ після обробки при рН 2, рН 4, рН 6, рН 8, рН 10 і рН 12 суттєво не змінилася порівняно з контролем. Адгезивність зразків ІБНГ 2, ІБНГ 4 і ІБНГ 10 значно знизилася, однак адгезивність у зразках ІБНГ 6, ІБНГ 8 і ІБНГ 12 суттєво не змінилася порівняно з контролем. Стан води в гелях, після рНкоригуючохі обробки змінився в результаті ядерно-магнітного резонансу в низько-частотному полі. Значно нижчий рівень зв'язаної води мали зразки ІБНГ 4 і ІБНГ 6 у порівнянні з контролем. Проте зразки ІБНГ 8, ІБНГ 10 і ІБНГ 12 мали більш високий рівень зв'язаної води у порівнянні з контролем. Іммобілізована вода зразка ІБНГ 6 мала більш високе значення у порівнянні зі зразками ІБНГ 2, ІБНГ 4, ІБНГ 8, ІБНГ 10 і ІБНГ 12. Ці висновки свідчать про те, що рН-коригуюча обробка буде практичним і доступним способом модифікації функціональних властивостей гелів ізоляту білка із шроту насіння гарбуза, пропонуючи основоположне розуміння шляхів майбутнього використання даного ізоляту у технологіях харчових продуктів.

Вивчено термічні, структурні та емульгуючі характеристики зразків білкового ізоляту із шроту насіння гарбуза, оброблених методом рНкоригуючої обробки. Контроль ІБНГ показав температури денатурації 87,67 і 104,11 °C, з відповідними ентальпіями 1,66 і 0,37 Дж/г, згідно з аналізом диференціальної скануючої калориметрії. Лише зразок ІБНГ 2 серед інших зразків ІБНГ не змінився суттєво порівняно з контрольним ІБНГ, щодо температур денатурації та ентальпій. Стійкість емульсії у зразках ІБНГ 2, ІБНГ 4 та ІБНГ 12 зросла на 42,32, 67,58 та 40,87 % відповідно, тоді як емульгуюча активність зразків ІБНГ 2, ІБНГ 4 та ІБНГ 12 зросла на 205,84, 298,98 та 288,69 % відповідно. Вміст дисульфідних зв'язків у зразках ІБНГ 2, ІБНГ 4 та ІБНГ 12 покращився (p < 0.05) на 7,46, 9,28 та 5,01 % відповідно, тоді як вміст вільних сульфгідрильних груп у них знизився (p < 0.05) на 36,69, 44,39 та 29,11 % відповідно, що свідчить про те, що підвищені емульгуючі властивості зразків ІБНГ 2, ІБНГ 4 і ІБНГ 12 можуть бути пов'язані зі збільшенням вмісту дисульфідних зв'язків і зниженням вмісту вільних сульфгідрильних груп. Проте гідрофобність поверхні та розміри частинок зразків ІБНГ не корелювали жодним чином з їх емульгувальною здатністю.

У четвертому розділі було проведено однофакторний тест та ортогональний тест для визначення оптимальної рецептури печива зі шротом насіння гарбуза та ізолятом із шроту насіння гарбузаям, у якому співвідношення пшеничного борошна з низьким вмістом глютену, шроту насіння гарбуза, ізоляту із шроту насіння гарбузаям та порошку конжаку становило 2:1:1, кількість рослинної олії та вершкового масла становила 4,0 % та 12,0 % відповідно, а кількість мальтиту становила 20,0 %. Аналіз харчової цінності показує, що печиво зі шротом насіння гарбуза та ізолятом із шроту насіння гарбузаям містить 59,2 % вуглеводів, у тому числі 19,1 % харчових волокон, 20,4 % білка, 18,0 % жиру та 1,8 % золи.

За допомогою ортогональних тестів і однофакторних досліджень було створено нову рецептуру м'ясного продукту. Ідеальними виробничими параметрами були 1,5 г/100 г білкового ізоляту із шроту насіння гарбуза, 80 г/100 г нежирного м'яса. Сенсорна оцінка розробленого м'ясного продукту становила 8,5 балів, що підтверджено відповідними актами дегустації. Кількість вологи, золи, протеїну та жиру становила 51,16 г/100 г, 2,26 г/100 г, 15,22 г/100 г та 23,15 г/100 г відповідно. Це дослідження може дати важливу інформацію щодо подальшого використання ізоляту білка із шроту насіння гарбуза у технології фаршевих виробів, таких як ковбаси та м'ясні хліби.

Дегустація бісквітів та м'ясних продуктів з додаванням ізоляту білка шроту насіння гарбуза проводились в Університеті Хечжоу в Китаї. Результати дегустації зафіксовані відповідними протоколами дегустації.

У п'ятому розділі наведено результати практичного застосування технології ізоляту білка із шроту насіння гарбуза та досліджено соціально-економічний ефект від впровадження даної технології у виробництво, розраховано собівартість продукції та узагальнено дані популяризації результатів досліджень. Доведено економічну доцільність впровадження розроблених технологій у практичну діяльність харчових підприємств.

**Ключові слова:** білковий ізолят, рослинний білок, насіннєве борошно, овочі, гарбузове насіння, рН-коригуюча обробка, фаршеві вироби, ковбаси, м'ясний хліб, кондитерські вироби, дієтичне харчування, функціональні та технологічні властивості, якісні характеристики, технологічні показники.

# LIST OF THE APPLICANT'S PUBLICATIONS SCOPUS/Web of Science publications

- 1. Gao, D., Helikh, A. O., & Duan, Z. (2021). Functional properties of four kinds of oilseed protein isolates. *Journal of Chemistry and Technologies*, 29(1), 155-163. DOI: https://doi.org/10.15421/082116. (*PhD participant in carrying out of experimental research, processing of results, and writing the article*).
  - 2. Gao, D., Helikh, A., & Duan, Z. (2021). Determining the effect of pH-

- shifting treatment on the solubility of pumpkin seed protein isolate. *Eastern-European Journal of Enterprise Technologies*, 5(11), 113. DOI: 10.15587/1729-4061.2021.242334. (*PhD participant in carrying out of experimental research, processing of results, and writing the article*).
- 3. Gao, D., Helikh, A., Duan, Z., Liu, Y., & Shang, F. (2022). Development of pumpkin seed meal biscuits. *Eastern-European Journal of Enterprise Technologies*, 2(11), 116. DOI: https://doi.org/10.15587/1729-4061. 2022.254940. (*PhD participant in carrying out of experimental research, processing of results, and writing the article*).
- 4. Gao, D., Helikh, A. O., Filon, A. M., Duan, Z., & Vasylenko, O. O. (2022). Effect of Ph-shifting treatment on the gel properties of pumpkin seed protein isolate. *Journal of Chemistry and Technologies*, 30(2), 198-204. DOI: https://doi.org/10.15421/jchemtech.v30i2.241145. (*PhD participant in carrying out of experimental research, processing of results, and writing the article*).
- 5. Gao, D., Helikh, A., Duan, Z., & Xie, Q. (2023). Thermal, structural, and emulsifying properties of pumpkin seed protein isolate subjected to pH-shifting treatment. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 17(3), 2301-2312. DOI: https://doi.org/10.1007/s11694-022-01776-6. (*PhD participant in carrying out of experimental research, processing of results, and writing the article*).

### Articles in scientific professional publications of Ukraine

- 6. Gao, D., Helikh, A., & Duan, Z. (2020). Optimization of ultrasound-assisted alkaline extraction of pumpkin seed protein isolate by response surface methodology. *Scientific Notes of Taurida National V.I. Vernadsky University*. *Series: Technical Sciences*, 1(2), 44-49. DOI: https://doi.org/10.32838/TNU-2663-5941/2020.3-2/08. (*PhD participant in carrying out of experimental research, processing of results, and writing the article*).
- 7. Gao, D., Helikh, A., Duan, Z., Liu, Y., & Shang, F. (2022). Study on application of pumpkin seed protein isolate in sausage production process. *Technology audit and production reserves*, 2(3 (64)), 31-35. DOI: http://doi.org/10.15587/2706-5448.2022.255785. (*PhD participant in carrying out of experimental research, processing of results, and writing the article*).

### **Conference papers**

- 8. Gao Dan, Duan Zhenhua, Helikh Anna (2020). Preparation and functional properties of four kinds of oil seed protein isolates. *The 4<sup>th</sup> international conference on processing and preserving of fresh food. Collection of abstracts of reports*, 48 (August 15-17, 2020, Hezhou) (*PhD participant in carrying out of experimental research, processing of results, and writing the article*).
- 9. Gao Dan, Helikh Anna, Duan Zhenhua (2021). Study of water dynamics in pH-shifting treated pumpkin seed protein isolate by LF-NMR. *IV international scientific and practical conference "Modern directions of scientific research development"*. Collection of abstracts of reports, 81-85 (September 28-30, 2021, Chicago) (*PhD participant in carrying out of experimental research, processing of results, and writing the article*).
- 10. Gao Dan, Helikh Anna, Duan Zhenhua (2021). Evaluation of solubility of pumpkin seed protein isolate subjected to pH-shifting treatment. *The II international scientific and practical internet conference. Collection of abstracts of reports*, 24-25 (December 1-2, 2021, Dnipro-Opole) (*PhD participant in carrying out of experimental research, processing of results, and writing the article*).
- 11. Helikh Anna, Gao Dan, Duan Zhenhua (2022). Extraction of pumpkin seed meal protein isolate and its possible applications in food. Міжнародна науково-практична конференція «Здорове харчування дітей в Україні запорука майбутнього нації: стан і перспективи», Collection of abstracts of reports, 46-38 (September 29, 2022, Київ НУХТ) (PhD participant in carrying out of experimental research, processing of results, and writing the article).
- 12. Gao Dan, Helikh Anna, Duan Zhenhua (2022). Effects of heat treatment on structure, function, and allergenicity of plant proteins. *Conference of global and national trends in life sciences. Collection of abstracts of reports*, 4-6 (May 12, 2022, Nizhyn) (*PhD participant in carrying out of experimental research*,

processing of results, and writing the article).

13. Gao Dan, Helikh Anna, Duan Zhenhua (2023). Food safety of pumpkin seed meal protein isolate. *Proceedings of the XVIII International Scientific and Practical Conference, Collection of abstracts of reports,* 414-416 (May 09-12, 2023, Bilbao, Spain). DOI: https://doi.org/10.46299/ISG.2023.1.18. (*PhD participant in carrying out of experimental research, processing of results, and writing the article*).

#### INTRODUCTION

Authenticity of the subject. Oil crops are planted on a large scale in the world, and a large amount of meal will be produced after oil removal. China and Ukraine rank first and third in the cultivation of pumpkin seeds in the world and produce large amounts of pumpkin seed meal. The available resources in the extracted meal include residual fat, protein, dietary fiber, phospholipid, gossypol and phytic acid. The protein content of pumpkin seed meal can reach more than 40%, containing 17 kinds of amino acids, including special pumpkin seed amino acids.

From the perspective of amino acid composition, it contains 8 kinds of amino acids essential for human body and histidine essential for children, the content of which exceeds the standards set by FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations) and WHO (World Health Organization), and the proportion of essential amino acids is similar to the amino acid composition pattern required by human body. It is a kind of high-quality plant protein resources.

At present, pumpkin seed meal is mainly used as feed and soil compost. At the same time, the enterprise did not carry out more in-depth processing of pumpkin seed meal, but simply and brutally direct use, which cause the waste of this resources, reduce the economic and social benefits.

Therefore, the development of pumpkin seed meal biscuits technology and pumpkin seed protein isolate sausage technology is an actual task, and solving this problem will ensure the creation of high quality and nutritional value products, and improve the use of the precious resource of pumpkin seed meal in China and Ukraine.

Relevance of the topic. In recent years, oilseed meal proteins have emerged and become popular. Protein is one of the essential nutrients in human cell life, and severe protein malnutrition is the leading cause of child mortality in many African and Asian countries. Intact proteins containing all nine amino acids essential for human health are usually found in animal foods, such as meat and dairy products. However, people are more aware of the benefits of alternative

proteins such as oilseed meal proteins based on the meat gap of population growth, the environmental hazards of animal husbandry and the risk of related chronic diseases caused by meat products. In developed regions such as the United States and Europe, the substitution effect of oilseed meal proteins on animal protein is gradually strengthened. According to the forecast of the United Nations, the world population will reach about 9.8 billion in 2050, and the urbanization rate will increase from 55% in 2018 to 68%. Urbanization and population growth will lead to an increase in the total demand for meat, and meat replacement proteins such as oilseed meal proteins will be more necessary and emergency.

The by-products of pumpkin seeds after oil extraction are valuable raw materials. They are rich in protein and dietary fiber, etc., which have a very important impact on the nutrition, biological value and physical and chemical properties of food products.

Connection of work with scientific programs, plans, topics. The dissertation was completed within the research work theme plan of Sumy National Agricultural University of Ukraine, on the subject of research of the Department of Technology and Food Safety 0122U201388 "Development of technical documentation for dual purpose protein raw materials" and 0119U101237 "Innovative technological solutions in the production of food products".

### The purpose and objectives of the work

The purpose of the dissertation is the development of technology of biscuits with pumpkin seed meal and sausage with pumpkin seed protein isolate to improve the quality, nutritional and biological value of products.

In order to achieve the goal, the following tasks should be solved:

- compare the functional properties of pumpkin seed protein isolate with that of other three oilseed proteins;
- determine the extraction condition of pumpkin seed protein isolate by ultrasonic assisted alkaline solution and acid precipitation;
- improve the functional properties of pumpkin seed protein isolate by pH-shift treatment;

- determine technology of production of biscuits added with pumpkin seed meal and sausage added with pumpkin seed protein isolate;
- determine the social and economic benefits of scientific and technological development, and implement the work results into practical production.

The object of research is technology products of biscuits with the addition of pumpkin seed meal and sausage with the addition of pumpkin seed protein isolate.

The subjects of research are pumpkin seed meal, pumpkin seed protein isolate, biscuits with the addition of pumpkin seed meal and sausage with the addition of pumpkin seed protein isolate.

Research method. Physico-chemical methods for studying functional and structural properties of protein isolates, response surface analysis for extracting pumpkin seed protein isolate, orthogonal experimental method for determining biscuits and sausages recipes, microbiology and nutritional analysis of biscuits and sausage, mathematical methods for experimental planning and experimental data processing.

The practical significance of the results obtained. For a long time, most of the by-products of pumpkin seed meal from pumpkin seed oil extraction are used as feed or waste. In this study, this by-product is used to develop new food, which not only avoids the waste of pumpkin seed meal but also improves its economic value. The products are developed to compensate for the health problems caused by people's intake of protein and dietary fiber and meet the health needs. In addition, the extraction rate of protein from pumpkin seed meal and the functional properties of pumpkin seed protein isolate were improved by ultrasonic assisted alkali-soluble acid precipitation method and pH-shifting treatment, respectively, which was more conducive to the application of pumpkin seed protein isolate in food industry. Technical documentation has been developed and approved (TS 10.8-04718013-006:2022 "Pumpkin protein"; TS 10.3-04718013-008:2022 "Concentrated and dried taro products"; Q/YTBG-0001S-2022 "Pumpkin Seed Meal Cookies"; Q/YTBG-0002S-2022 "Pumpkin Seed Protein

Isolate Sausage"; Q/YTBG-0003S-2022 "Pumpkin Seed Protein Isolate Cookies"), which regulates the technical requirements and technological process for the production of semi-finished products from pumpkin seed meal and food products using it. A Ukrainian patent for an invention (u202201407 "Meat pate with the addition of pumpkin seed protein isolate" and a utility model (u202204667 "Method for obtaining protein isolate from pumpkin seed meal") has been submitted. The semi-finished product made from pumpkin seed meal (pumpkin seed meal protein isolate) was introduced at the specialized enterprises: Individual entrepreneur "Filon A.M.", Individual entrepreneur "Klymenko L.O.", Shenzhen Wah Tai Xing Foods Co., Ltd.

The applicant's personal contribution. The applicant's personal contribution is to plan and carry out experimental research under laboratory conditions, conduct mathematical processing and scientific analysis, form conclusions and suggestions, prepare materials for publication, as well as introduce new technologies into production.

The dissertation work was carried out with the methodological and scientific support of Ph.D., Associate Professor Anna Helikh.

Approbation of dissertation results. The dissertation research results are introduced at the fourth international conference on processing and preserving of fresh food (August 15-17, 2020, Hezhou); the IV international scientific and practical conference "Modern directions of scientific research development" (September 28-30, 2021, Chicago); the II international scientific and practical internet conference (December 1-2, 2021, Dnipro-Opole); international scientific and practical conference "Healthy nutrition of children in Ukraine - the key to the future of the nation: state and prospects" (September 29, 2022, Kuïß HУХТ); the Conference of global and national trends in life sciences (May 12, 2022, Nizhyn); proceedings of the XVIII International Scientific and Practical Conference, Collection of abstracts of reports (May 09-12, 2023, Bilbao, Spain).

**Publications.** According to the dissertation work, the applicant published 13 scientific publications, 5 of them in periodical scientific publications indexed

in Web of Science or Scopus, 2 of them were published in Ukrainian professional journals, in and 6 abstracts of reports at scientific and practical international conferences.

**Structure and scope of the dissertation.** The thesis consists of an introduction, five sections and conclusions, 131 references, which are all from far abroad and 19 additions. The full text of the paper is 148 pages, with 29 tables and 46 figures.

	TABLE OF CONTENTS	Ρ.			
THE I	LIST OF SYMBOLS	28			
SECT	ION 1 LITERATURE REVIEW ON THE TOPIC AND CHOICE	20			
OF RI	ESEARCH DIRECTIONS	29			
1.1	The existing waste problem of oilseed meals	29			
1.2	Types of protein isolates and functional properties of proteins	34			
1.2.1	Solubility	34			
1.2.2	Water- and fat-holding capacity	35			
1.2.3	Emulsifying properties	35			
1.2.4	Foaming properties	35			
1.2.5	Gel-forming ability	36			
1.3	Known methods for obtaining protein isolates	36			
1.3.1	Alkaline extraction and isoelectric precipitation method	36			
1.3.2	Enzymatic extraction	37			
1.3.3	Ultrasound technology	37			
1.3.4	Reverse micelles extraction	38			
1.4	pH-shifting treatment for improving the functional properties of	39			
1.4	protein isolates	39			
1.5	The applications of oilseed protein isolates in food products	41			
Concl	usions to Section 1	43			
SECT	ION 2 OBJECTS, MATERIALS AND METHODS OF	44			
RESE	ARCH	44			
2.1	Object, subjects and materials of research	44			
2.2	Research methods	45			
2.2.1	The extraction methods of four kinds of oilseed protein isolates	45			
2.2.2	Water-absorbing ability and oil-absorbing ability of PSPI	46			
2,2,2	powder				
2.2.3	Emulsifying ability and emulsifying stability	46			
2.2.4	Foaming ability and foaming stability	47			
2.2.5	Wetting time	47			

2.2.6	Solubility	47			
2.2.7	Preparation of defatted pumpkin seed flour	47			
2.2.0	The alkali extraction method of pumpkin seed protein isolate				
2.2.8	assisted by ultrasonic sound				
2.2.9	The pH-shifting methods of PSPI	48			
2.2.10	Preparation of PSPI gel	48			
2.2.11	Water-absorbing ability of SPI gel	49			
2.2.12	Textural analysis	49			
2.2.13	Average particle size and zeta potential of soluble protein in PSPI	49			
2.2.14	Sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gel electrophoresis (SDS-PAGE) of soluble protein in PSPI	49			
2.2.15	LF-NMR spin-spin relaxation (T2) measurements	50			
2.2.16	Thermal properties of PSPI	50			
2.2.17	Free sulfhydryl group contents and disulfide bond contents	50			
2.2.18	Surface hydrophobicity	51			
2.2.19	Intrinsic fluorescence spectroscopy	51			
2.2.20	Scanning electron microscopy (SEM)	52			
2.2.21	Particle size determination of PSPI samples	52			
2.2.22	The making process of pumpkin seed meal biscuits	52			
2.2.23	Single-factor experimental design of making biscuits	53			
2.2.24	Orthogonal experimental design of making biscuits	53			
2.2.25	The making process of pumpkin seed protein isolate sausage	54			
2.2.26	The single factor tests of pumpkin seed sausage	54			
2.2.27	The Orthogonal test of pumpkin seed sausage	54			
2.2.28	Determination of chemical compositions	54			
2.2.29	Determination of moisture	55			
2.2.30	Postprandial glycemic index determination of biscuits	55			
2.2.31	Microbial analysis	56			
2.2.32	Determination of multi-element contents	56			

2.2.33	Determination of digestive properties of biscuits 5					
2.2.34	Determination of digestive properties of sausage					
2.3	Laboratory research protocols					
2.4	Statistical analysis	57				
SECTI	ON 3 TECHNOLOGY FOR OBTAINING PROTEIN ISOLATE					
FROM	PUMPKIN SEED MEAL AND IMPROVING THE	58				
FUNC	ΓΙΟΝΑL PROPERTIES BY PH-SHIFTING TREATMENT					
2 1	Compare the functional properties of pumpkin seed protein	58				
3.1	isolate to three oilseed protein isolates					
3.1.1	The oil-absorbing ability of PEPI, PSPI, SOPI, and SUPI	58				
3.1.2	The water-absorbing ability of PEPI, PSPI, SOPI, and SUPI	59				
3.1.3	The wetting time of PEPI, PSPI, SOPI, and SUPI	60				
3.1.4	The foaming ability of PEPI, PSPI, SOPI, and SUPI	61				
3.1.5	The foaming stability of PEPI, PSPI, SOPI, and SUPI	62				
3.1.6	The emulsifying ability of PEPI, PSPI, SOPI, and SUPI	62				
3.1.7	The emulsifying stability of PEPI, PSPI, SOPI, and SUPI	63				
3.1.8	The amino acid of PEPI, PSPI, SOPI, and SUPI	64				
3.2	Extraction of pumpkin seed protein isolate					
2 2 1	The influence of ratio of solid to liquid on protein extraction					
3.2.1	yield					
3.2.2	The influence of extraction powers on protein extraction yield	67				
3.2.3	The influence of extraction time on protein extraction yield					
2 2 4	Results of the optimum extraction conditions (ultrasonic power,					
3.2.4	ultrasonic time and ratio of liquid to solid)					
3.3	Improving the gel properties of PSPI by pH-shifting treatment	74				
2 2 1	Technological scheme for obtaining a semi-finished product					
3.3.1	(protein isolate from pumpkin seed meal)					
3.3.2	Results of textural analysis of PSPI gel	75				
3.3.3	Results of water-absorbing ability of PSPI gel	78				
3.3.4	Results of water state of PSPI gels evaluated by LF-NMR	78				

3.4	Improving the solubility of PSPI by pH-shifting treatment	80			
3.4.1	· ·				
2 4 2	Results of determining the average particle size of soluble	81			
3.4.2	protein in PSPI				
2 4 2	Results of determining the zeta potential of soluble protein in	02			
3.4.3	pumpkin seed protein isolate	82			
2 1 1	Results of determining abundant change of the soluble protein	83			
3.4.4	bands of pumpkin seed protein isolate				
2.5	Improving the emulsifying properties of PSPI by pH-shifting	85			
3.5	treatment				
3.5.1	Thermal properties of PSPI	85			
3.5.2	Disulfide bond contents and free sulfhydryl group contents of	88			
3.3.2	PSPI	00			
3.5.3	Surface hydrophobicity of PSPI	90			
3.5.4	Fluorescence intensity of PSPI	91			
3.5.5	Particle size of PSPI	92			
3.5.6	SEM photographs of PSPI	94			
3.5.7	Emulsifying ability and emulsifying stability of PSPI	95			
3.5.8	Microbiological and toxicological indicators of pumpkin seed	96			
3.3.6	meal protein isolate				
Conclu	sions of Section 3	98			
SECTI	ON 4 TECHNOLOGIES OF BISCUITS WITH THE				
ADDIT	TION OF PUMPKIN SEED MEAL AND MEAT PRODUCTS	101			
WITH	THE ADDITION OF PUMPKIN SEED PROTEIN ISOLATE				
4.1	The technology of pumpkin seed meal biscuits	101			
4.1.1	Basic composition analysis of the pumpkin seed meal	101			
	Results of the effect of the addition ratio of low-gluten wheat				
4.1.2	powder, pumpkin seed meal powder, and konjac powder on the	101			
	biscuits' quality				
4.1.3	Results of the effect of the addition ratio of plant oil and butter	104			

	on the biscuits' quality		
111	Results of the effect of the addition of maltitol on the biscuits'	106	
4.1.4	quality	105	
4.1.5	Results of orthogonal test	106	
116	Results of the nutritional indicators of pumpkin seed meal	100	
4.1.6	biscuits	108	
117	The GI value and digestive property of pumpkin seed meal		
4.1.7	biscuits	109	
4.1.8	Microbiological analysis, heavy elements, minerals, and		
4.1.0	radioactive element of pumpkin seed meal biscuits	111	
4.2	Study on pumpkin seed protein isolate meat product	112	
4.2.1	The effect of pumpkin seed protein isolates on the quality of	112	
7,2,1	meat product	112	
4.2.2	The effect of lean meat on the quality of meat product	113	
4.2.3	The effect of cooking time on the quality of meat product	114	
4.2.4	The effect of baking time on the quality of meat product	115	
4.2.5	Results of orthogonal test	115	
4.2.6	Results of the nutritional indicators of pumpkin seed protein		
1.2.0	isolate meat product	117	
4.2.7	The digestibility of pumpkin seed protein isolate meat product	118	
	Microbiological analysis, heavy elements, minerals, and		
4.2.8	radioactive element of pumpkin seed protein isolate meat	119	
	product		
Conclu	usions to Section 4	119	
SECTI	ON 5 PRACTICAL IMPLEMENTATION OF PUMPKIN SEED	121	
MEAL	PROTEIN ISOLATE AND FOOD PRODUCTS USING IT		
	Determination of the socio-economic effect of the introduction		
5.1	of the semi-finished product production technology from	121	
	pumpkin seed meal		
5.2	Implementation of research results into practice	128	

Conclusions to Section 5	130
CONCLUSIONS	132
REFERENCES	134
ADDITIONS	148
Addition A. "Protocols of experimental data"	
Addition B. "Degustation certificates"	
Addition C. TS 10.8-04718013-006:2022 "Pumpkin protein"	
Addition D. TS 10.3-04718013-008:2022 "Concentrated and dried taro	
products"	
Addition E. Q/YTBG-0001S-2022 "Pumpkin Seed Meal Cookies"	
Addition F. Q/YTBG-0002S-2022 "Pumpkin Seed Protein Isolate	
Sausage"	
Addition G. Q/YTBG-0003S-2022 "Pumpkin Seed Protein Isolate	
Cookies"	
Addition H. Certificate of implementation "Technology of sausages	
using protein isolate from pumpkin seed meal"	
Addition I. Certificate of implementation "Technology of biscuits using	
protein isolate from pumpkin seed meal"	
Addition J. Certificate of implementation "Technology of pork sausages	
using concentrated taro products"	
Addition K. Certificate of implementation "Technology of meat pate	
using protein isolate from pumpkin seed meal"	
Addition L. Certificate of implementation "Technology of duck meat	
sausages using concentrated taro products"	
Addition M. Certificate of implementation "Technology of sausages	
using protein isolate from pumpkin seed meal"	
Addition N. Certificate of implementation "Technology of biscuits using	
protein isolate from pumpkin seed meal"	
Addition O. Certificate of implementation "Technology of pork	
sausages using concentrated taro products"	

Addition P. Certificate of implementation "Technology of meat pate using protein isolate from pumpkin seed meal"

Addition Q. Certificate of implementation "Technology of duck meat sausages using concentrated taro products"

Addition R. Certificate of implementation "Pumpkin Seed Protein Isolate Sausage"

Addition S. Certificate of implementation "Pumpkin Seed Protein Isolate Cookie"

## THE LIST OF SYMBOLS

PEPI	Peanut protein isolate				
PSPI	Pumpkin seed protein isolate				
SUPI	Sunflower seed protein isolate				
SOPI	Soybean protein isolate				
UAAE	Ultrasound-assisted alkaline extraction and acid precipitation				
SEM	Scanning electron microscopy				
EAI	Emulsifying ability indicator				
ESI	Emulsifying stability indicator				

## SECTION 1 LITERATURE REVIEW ON THE TOPIC AND CHOICE OF RESEARCH DIRECTIONS

#### 1.1 The existing waste problem of oilseed meals

Oilseed crops are large-scale cultivated throughout the world, and are closely associated with human nutrition. From 2019 to 2020, the production of major oilseed crops was about 580 million metric tons, with the highest recorded for soybean followed by rapeseed, sunflower seed, and cotton seeds [1]. America and Europe together account for more than 60 % of the world production of major oilseed crops [2]. This high production of oilseeds resulted in the production of a large number of oilseed meals. There are two traditional ways to extract oil from oilseeds, which are either by screw press or by solvents. The term "cake" means that the co-product is obtained from screw press, whereas the term "meal" means that the co-product is obtained from organic solvents. Nevertheless, there is certain ambiguity in the use of these two words and in most cases, these two words are interchangeable. A large volume of oilseed meals obtained from the harvesting and processing of oilseed crops can affect human health by providing nutrients such as protein and dietary fiber.

The global production of oilseed meals, on average, increased 2.3 % annually over the past decade to 2010 [3]. The annual output of oilseed meals in India, which is the world's biggest oilseed producers, are over 25 million ton [4]. In terms of the oilseed meal quantities produced, soybean seed meal is the world's largest by-product of oilseed meals, followed by canola seed [3].

Oilseed meals are high in protein, energy, carbohydrates and minerals [5]. There is evidence that oilseed meals were used as a dietary source for human consumption. For example, proteins, dietary fiber, antioxidants, and other bioactive compounds extracted from oilseed meals have beneficial characteristics for health that can be used in foods, cosmetics, textile and pharmaceutical industries [6; 7]. Hence, using these oilseed meals is a sustainable way to contribute to the development of low-cost, novel, nutrient-rich products while reducing food waste disposal [8]. Oilseed meals, including soybean meal, peanut

meal, hemp seed meal, sesame seed meal, chia seed meal and kenaf seed meal, are low in cost but are highly nutritious. The compositions of these meals are presented in Table 1.1.

Table 1.1 Composition of edible oilseed meals

Edible oilseed	Compositions (%)					
meals	Protein	Moisture	Fat	Ash	Carbohydr ate	
Soybean [9]	33.04– 56.27	11.02	3.17	5.07	32.95	
Kenaf seed [10]	26.19	9.34	0.73	6.65	57.09	
Sesame seed [8]	45.31– 45.88	7.12–7.57	13.31– 14.52	3.41–3.62	18.70– 20.08	
Hemp seed [11]	32.21– 40.70	6.00-7.00	2.10– 10.20	5.24-7.08	2.80	
Peanut [12]	44.51– 55.88	8.12	1.50-7.76	4.85– 14.49	12.70– 25.14	
Chia seed [13]	33.26	8.95	10.90	8.28	38.61	

Except soybean, peanut, sunflower seed and other traditional oilseeds, the production of pumpkin seed is also very huge. The defatted pumpkin seed meal is also thought to be a valuable source of proteins for human consumption [14]. As showed in Fig. 1.1, the pumpkin production of China and Ukraine ranks the first and third place in the world, respectively, which bring about huge number of pumpkin seeds as by-products.

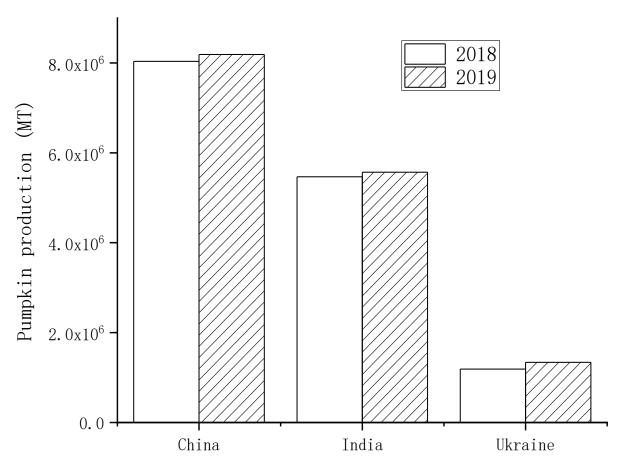


Fig. 1.1 Top three pumpkin producing countries in the world in 2018 and 2019

The pumpkin seed meal is a very valuable raw material with high nutritional value such as protein, dietary fiber, vitamins and minerals. The pumpkin seed meal contain high protein content, which can reach up to 66.54% [15]. Albumin, globulin, glutenin, and proline make up pumpkin seed protein. According to FAO/WHO (2007), the essential amino acids composition of pumpkin seed protein (apart from His) can provide the minimum requirement for adults. Additionally, the protein from pumpkin seed meal contains a variety of useful peptides, including ACE inhibitory, antioxidant, and antibacterial peptides. According to some research, bioactive peptides found in pumpkin seed meal can be used as a nutritional supplement in functional foods such as solid capsules and peptide oral solutions [16]. Additionally, Periin et al. discovered that pumpkin seed meal had a phenolic acid concentration of 42.57 mg/kg, which was substantially higher than that of pumpkin seeds (12.22 mg/kg). Phenolic acids have a significant role in preventing food spoilage and advancing human health because they have antioxidant, antimicrobial, and anti-malignant cell proliferation

activities [17]. Thus, our study will focus on the protein in pumpkin seed meal to improve its additional value.

Table 1.2 Comparison of Essential Nutrients (Dry Basis) of Pumpkin Seeds [18]

	Nude	Chinese	Indian	American
Items	Pumpkin	pumpkin	Pumpkin	Pumpkin
	Seeds	seeds	Seeds	Seeds
1000-grain weight (g)	122.9±2.05	115~123	149~338	90~212
Moisture (%)	5.64±0.03	5.81	5.85	4.71
Ash (%)	3.84±0.12	-	-	-
Crude fat (%)	39.22±0.86	40.52~41.27	37.94~59.36	35.00~52.54
Unsaturated fatty acid (%)	82.53±0.57	71.64~79.29	28.35~80.84	58.89
Crude protein (%)	35.64±0.88	42.08	38.31	40.46
Crude fiber (%)	16.30±1.26	6.58	7.83	8.32
Soluble reducing sugar (mg/100 g)	35.6±1.03	56~58	49.17~76.53	49~75
Starch (mg/100 g)	10.7±0.61	17~20	14~20	14.5~20

Predominantly, oilseed meals are valuable protein sources that are suitable alternatives for replacing animal or other plant sources of protein since they are easily digestible, non-toxic and nutritionally sufficient [3; 19; 20]. Cold press meals of sunflower, flaxseed, pumpkin or hemp contain 19.9~44.9, 14.4~41.9, 29.4~53.9, and 23.5~33.6% crude proteins, respectively [3; 7; 20]. However, the oilseed meals are mainly used to feed cattle or used as soil compost. The powerful role of oilseed meals in human nutrition lacks further exploration. They are underutilized due to a lack of awareness and subsequent research. Besides, based on the current demand for animal protein, environmental protection and other complex reasons, it is necessary to improve the utilization rate of protein in

oilseed meals [21].

First, the animals like poultry, pigs, and cattle are major sources of protein. By 2050, the demand for proteins originating from animals is anticipated to double globally [22]. The production of animal proteins, however, produces a heavy burden on the environment [23; 24]. According to a report, animal husbandry generates carbon emissions that account for 15% of all worldwide carbon emissions, which is higher than all global cars combined [25]. Fresh cow milk produces roughly seven times more carbon emissions per liter than soybean milk. At the same time, a lot of water is needed for milk production. According to studies, generating 100 ml of milk requires 100 liters of water, whereas producing plant milk like walnut milk only needs 5 liters.

On the world average, it takes an average of 15,340 liters of water for producing per kilogram of beef, and 4,856 liters of water for pork, while only 1,789 liters of water for soybeans and only 1,334 liters for wheat [26]. Additionally, while animal products are a good source of protein, they also include a lot of fat and cholesterol, which can lead to other serious disorders including hypertension and hyperlipidemia. Compared to animal protein, plant proteins like oilseed derived proteins have lower cholesterol and saturated fat [27]. In addition, oilseed protein can help to build muscle tissue and experiments have shown that most plant proteins are as effective as whey protein in muscle building [28]. It has demonstrated that oilseed proteins such as peas and beans can increase satiety and limit calorie intake [29], consequently lowering abdominal fat and maintaining weight management [30]. The breakdown of animal protein into individual amino acid units, which can subsequently be reassembled into new proteins for utilization, requires more energy from the body [31].

Furthermore, due to growing worries about the environment, animal welfare, and health, vegetarianism has become much more fashionable over the past few years. Business Wire forecast that by 2024, the vegetarian market would double in size from what it is currently and that by 2054, plant proteins will account for over one-third of the global protein industry [32]. With 38% of people

being vegetarian, India has the greatest vegetarian population in the world, according to a Worldatalas survey [33]. The second is Taiwan, where 12% of its population is vegetarian. About 10% of the population of Europe, Israel, Austria, Germany, Britain, and Italy are vegetarian. Nonetheless, according to Faunalytics.org, there are 1.6 million people who are strictly vegetarian in the US. It is believed to be a good strategy to meet the need for food proteins to use oilseed protein sources as substitutes for animal proteins.

### 1.2 Types of protein isolates and functional properties of proteins

The proteins extracted from oilseed meals are normally classified into three kinds, namely protein concentrate, isolate, and hydrolysate. Different methods can produce different protein extracts, which can be classified into flour (< 65%), protein concentrates (65-90 %), and protein isolates (90 %) according to their different protein contents [6]. However, compared with the nutritional properties of proteins, the functional properties of proteins more strongly determine their successful application in the food industry. The functional properties of proteins are closely related to the physical, chemical, conformational properties of proteins during processing, storage, cooking and consumption. Different composition, preparation methods, thermal history, and environment (pH, ionic strength, and temperature, etc.) can all lead to different protein functional properties.

### 1.2.1 Solubility

Solubility refers to the number of proteins entering the solution or colloid under a specific condition and is not sedimented by moderate centrifugal forces. Different proteins have different solubility [34]. Plan proteins often have better solubility while the proteins involved in the structure of the organism have almost no solubility. The solubility has a great relationship with the application of protein in industry, and the solubility of protein is the basis of whether it can be widely used in industry. The solubility of protein affects other functional characteristics of protein, such as emulsifying property, foaming property, gel property and so on. It also determines whether the protein is competitive in the market. Proteins with low solubility are usually only used as animal feed or food fortifier.

#### 1.2.2 Water- and fat-holding capacity

In food products, water-holding capacity of proteins are very important, and it refers to the ability of proteins to absorb, maintain binding, hydrodynamic, capillary and physically capture water under gravity [34]. There are many factors affecting the ability of proteins to bind water, such as amino acid composition, protein conformation, surface hydrophobicity, ion concentration, and pH. For example, proteins containing large amounts of charged amino acids tend to have good water-holding capacity.

The fat-holding capacity of protein is an important feature of enhanced flavor retention and improved the taste of meat substitutes, extenders and other applications. Since fat separation is a common problem in processed meat products, protein isolates can be added to minced meat to promote fat binding and reduce cooking losses.

### 1.2.3 Emulsifying properties

Emulsions are intended to be a liquid-dispersed systems with evenly distributed tiny droplets. Oil/water emulsions can be made with proteins, whereas water/oil emulsions cannot. The effective molar mass of protein is an important factor in the formation of emulsion. The higher the effective molar mass, the greater the mass of the protein obtained the small droplets. The instability of emulsion system can be manifested in many ways, such as flocculation, coalescence, stratification (or sedimentation), demulsification, etc. Since proteins have the capacity to facilitate emulsion formation, improve emulsion stabilization, and produce the desired physicochemical properties in oil-in-water emulsions, they can be utilized as emulsifiers and used in food products like comminuted meats, beverages, salad dressings, and sausages.

### 1.2.4 Foaming properties

The ability of proteins to form stable foams is very important in food production. The constitutes of food foams are very complex, including gases, liquids, solids and surfactants. The size of the bubbles in foam has a big effect on the appearance and texture of the food. In general, foods with small, even bubbles

are smoother and lighter. Protein helps to evenly distribute small amounts of air in food. The formation of air bubbles in foams also helps flavor volatilization, increase the palatability of food.

### 1.2.5 Gel-forming ability

One of the most significant features of proteins is their capacity to form gels. Protein gels are widely used in the food industry. Forming a gel requires several steps, such as denaturation, polymerization and formation of network structures. There are many ways to form gels, such as heating, high hydrostatic pressure, salt or acid treatment, enzyme-induced gelation and so on. Among them, thermos-induced gel is one of the most commonly studied phenomena in food science, and also one of the main reasons for the formation of many food structures.

### 1.3 Known methods for obtaining protein isolates

There are various methods to extract proteins from oilseed meals. Alkaline solution and acid precipitation is the most frequently employed method to extract proteins from many oilseed meals [35].

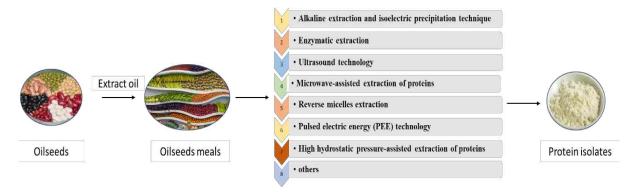


Fig. 1.2 Eco-innovative technologies for protein extraction

### 1.3.1 Alkaline extraction and isoelectric precipitation method

Alkaline extraction and isoelectric precipitation technique comprises alkaline solubilization of the proteins, removal of the insoluble material by centrifugation, protein precipitation at isoelectric point and collection of precipitated protein by centrifugation. However, the long extraction procedure will cause denaturation of the protein. For the instability of secondary, tertiary, or quaternary structures, as well as potential toxicity and unfavorable secondary

reactions, proteins may aggregate, solidify, become less soluble, and lose their ability to perform certain functions like emulsification and gelation [36]. Besides, this traditional method causes high consumption of acids, alkalis and water in the industrial production process. However, the advantage of alkaline solution and acid precipitation is that the protein extraction yield and purity are high and the operation process is very simple. The low cost makes it widespread use in industry.

#### 1.3.2 Enzymatic extraction

Another extensively used method to isolate protein is enzyme extraction. The degradation of the main components of plant cell walls and fiber, including cellulose, hemicellulose, and/or pectin due to enzymatic action, as well as the improvement in protein solubility as a result of partial hydrolysis by various proteases, are two reasons why enzyme-assisted protein extraction could harm the cell walls' integrity. The release of proteins into the solvent may be enhanced by the accelerated breakdown of cell walls. Compared to acid and alkaline aided extraction, it is thought to be a more mild extraction technique with a reduced environmental impact [37]. The products that are obtained, however, are better and more acceptable for human consumption [38; 39]. This approach has a number of drawbacks, including a long processing time, high operational expenses, high energy consumption, irreversible disruption of the carbohydrate-protein matrix, the need for precise process parameter adjustment (pH and temperature), and a high labor cost [40].

#### 1.3.3 Ultrasound technology

The use of microwave- and ultrasound-assisted extraction has recently attracted a lot of interest as ecologically friendly techniques. Electromagnetic waves with a frequency in the range of 300 MHz to 300 GHz are used in microwave technology. The energy of this radiation causes hydrogen bonds to break down, enables the migration of dissolved ions, increases the biological matrix's porosity, promotes more even heating, and exerts strong pressure on the plant cell walls, resulting in increased solvent penetration into the matrix and making it easier to extract the desired compound [41].

The main benefits of microwave technology include ease of handling,

reduced solvent use, reduced waste generation, and rapid extraction [41]. Recent research has shown that while some functional properties of proteins, such as their ability to bind to water and nitrogen and their ability to maintain foam stability, may decline, other functional properties, such as their ability to absorb fat, water, and other substances, as well as their ability to foam, emulsify, and digest proteins in vitro, may actually improve after microwave treatment [39].

Acoustic cavitation is used in ultrasound technology to damage plant cells and tissues and enhance mass transfer during the extraction process. Because it is carried out at atmospheric pressure and ambient temperature, utilizes a suitable amount of solvent, is reusable, and takes only a brief period of time to process, the use of ultrasound to help extraction offers the advantages of easy handling and safety [42; 43]. Ultrasound-assisted extractions from rice bran, soy beans, perilla seed, and pumpkin seed were reported to dramatically improve protein output. High power and prolonged sonication, however, may limit the ability to emulsify and foam [44]. Notably, a prior study found that altering the secondary structure of proteins using ultrasonic or microwave treatment could reduce the allergenicity of soybean protein isolate [45; 46].

#### 1.3.4 Reverse micelles extraction

Reverse micelles extraction uses aggregates of surfactant molecules with inner water molecule cores that are nanometer-sized and suspended in nonpolar solvents. Reverse micelles include polar water pools that have the ability to solubilize hydrophilic biomolecules like proteins [47]. Reverse micelles create a three-phase system with water, a surfactant, and an organic solvent to prevent organic solvents from denaturing the biomolecules in the polar water pools. The notion that the surfactant and organic solvents might be reused multiple times via recovery, reflecting cheap costs, is supported by a number of papers on this extraction method [48; 49]. Second, because the polar core's environment is similar to that seen in physiological contexts, it is possible to solubilize proteins in reverse micelles without compromising their natural conformation and activity [50]. Reverse micelle extraction is still done on a lab scale, despite claims that it is convenient and simple to scale up.

Although there are many other additional approaches, including ethanol-water extraction and the approach that combines alkaline extraction with membrane separation, among others. But the ethanol-water extraction procedure uses a lot of organic solvent [51]. The ultrafiltration and diafiltration membrane equipment is pricy and difficult to maintain. As of right now, industrial large-scale manufacturing still finds the alkaline solution and acid precipitation to be successful in achieving high yielding and purified protein like protein isolates [43]. In the current work, protein isolate was extracted from pumpkin seed meal using a combination of ultrasonic treatment and method of alkaline solution and acid precipitation to increase the extraction yield and protein purity of the isolated proteins.

# 1.4 pH-shifting treatment for improving the functional properties of protein isolates

After extraction protein isolate or protein concentrate from oilseed meals, some proteins can be directly applied in food products as additives. However, oilseed proteins must possess some certain functional qualities in order to be used in food processing. Protein performance in complex systems is influenced by functional features, such as solubility, water- and oil-absorbing capacity, foaming and gelling capacity, which are intrinsic physicochemical characteristics [52].

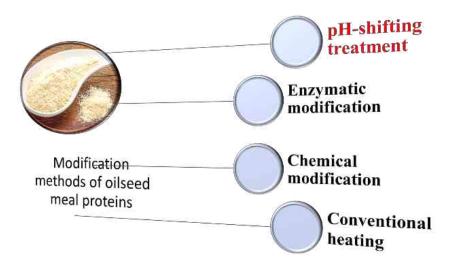


Fig. 1.3 The modification methods of oilseed meal proteins

There are many methods to improve the functional properties of proteins.

Generally, the protein modification methods can be classified into conventional heating, enzymatic modification, chemical modification and other novel methods like pH-shifting treatment. Among them, pH-shifting treatment attracts more and more interest as it is simple and convenient recently. It can unfold protein structure under an extreme acid or alkali condition and then refolded in a neutral condition. During the unfolding process, the globular protein undergoes a conformational change, generally described as a "molten globule" structure [53; 54]. Multiple functional qualities may be required simultaneously in a given product in many situations [55]. For instance, meat products require strong gel qualities as well as good solubility in oilseed proteins. The ability of oilseed proteins to absorb water is necessary for dough-making. When introduced in biscuits, it's important for oilseed meal proteins to have appropriate foaming and color control.

There are many researches about improving the solubility of oilseed meal protein isolates by pH-shifting treatment. The study found that raising the pH of solution to 10.0 marginally increased the solubility of soybean protein isolate [56]. Additionally, it has been shown that pH-shifting treatment enhanced the solubility of pea protein isolate from 8.17 to 54.94 % [57]. After a combined pH 12 shift and heating treatment at 80 °C for 60 min, the solubility of hemp seed protein isolate improved from 20.6 to 97.5 % [53]. According to a study, pH-shifting treatment can increase peanut protein's solubility from 79.39 % to 89.87 % [58]. These studies collectively demonstrated that pH-shifting treatment is a good strategy to improve the solubility of oilseed proteins.

The pH-shifting treatment is also used to enhance the gel-forming abilities of proteins. In a prior work, the binding of pH-shifting and heating treatments could considerably increase the penetrating force of soybean protein isolate gel [59]. The pH-shifting method is of great significance to improve the gel properties of peanut protein isolate. It was found that the breaking force and water-holding capacity of the peanut protein gel improved significantly due to the reduced particle size, enhanced solubility, free sulfhydryl group concentration, and surface

hydrophobicity after pH shifting treatment [58]. The pH-shifting treatment could also increase the ability of fish proteins to form gels [60].

There are some studies showed that pH-shifting treatment can enhance the emulsifying capacity of oilseed proteins. It has been shown that after pH-shifting treatment, the emulsifying activity and emulsion stability of soybean protein isolate were significantly increased [56]. Hemp seed protein displayed considerably improved emulsifying activity following a modest pH-shifting treatment combined with heating treatment [53]. Additionally, after an acid or acid-heat process, the emulsifying capacity of egg white protein was increased [61].

Except solubility, gel forming ability and emulsifying capacity, pH-shifting treatment also plays an important role on other functional properties of protein. Jiang et al. discovered that pea protein treated by pH-shifting treatment under alkaline conditions had higher oxidative stability in oil-in-water emulsion than native pea protein due to the structural change [62]. Chen et al. demonstrated that the interaction between pH-shifting treated whey protein isolate and epigallocatechin-3-gallate was strengthened due to the structural alterations.

The relevant task is to enhance pumpkin seed protein isolate's solubility, gel property, and emulsifying property by the process of pH-shifting treatment for its better application in food products.

# 1.5 The applications of oilseed protein isolates in food products

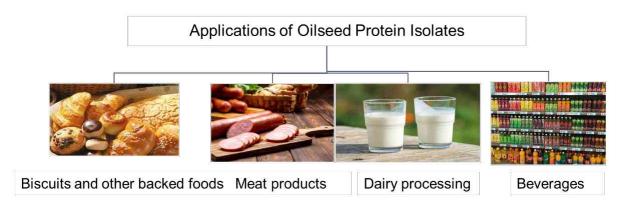


Fig. 1.4 The applications of oilseed protein isolates in food products

Oilseed protein isolates can be applied in different kinds of food products.

For example, the oilseed proteins are incorporated in meat products in order to increase nutritional value, consumer acceptability and benefits to human health. The most commonly applied in meat products is soybean protein isolate. As non-meat ingredients, the addition of soybean protein isolate is one of the possible solutions to the recent consumer requirements for low fat and low cholesterol meat products. It has been studied that addition of 2 % soybean protein isolate improved the moisture content and cooking yield of the light pork sausage [63]. Besides, the soybean protein isolate addition can slightly improve the texture, juiciness, and color of emulsion sausage [64]. Li et al. demonstrated that addition of soybean protein isolate didn't change the pH and color, but improve the emulsification properties of pork meat batters [65]. Gao et al. found that the addition of soybean protein isolate to meat would affect the moisture distribution and thermal gel of the prepared minced meat, resulting in a lower rate of moisture loss and making the product moist, juicy and rich in taste [66].

In order to improve the protein content, biscuits are another food product incorporated with protein isolate by some companies and some researches. Protein enrichment of biscuits meet the demand for higher nutritional content, since these biscuits tend to contain low protein contents (7-10 %). Besides, biscuits are enriched by oilseed proteins to increase their nutritional properties, improve protein consumption, or supply a gap of detected limiting amino acids like lysine, methionine, or tryptophan. In terms of sensorial characteristics, in most circumstances, the commonly low acceptability of biscuits containing higher protein contents was ascribed to the taste and darkening. For example, addition with soybean protein isolate or whey protein concentrate would increase the darkness of the biscuits [67]. Another research found that taking biscuits fortified with whey protein isolate, with or without wheat bran as a part of diet can help to decrease appetite, caloric intake, and body weight in overweight or obese persons [68]. Protein isolates can also be used in the production of dairy products, such as formula milk powder and liquid milk. They can improve the protein content, nutrition and flavor of milk, and provide complimentary benefits in terms of amino acid content, ratio, and flavor. For example, soybean protein isolate has

functional properties, such as dispersibility (reconstituting), solubility, stability and emulsification. And it does not contain lactose, which can avoid the discomfort of lactose. Besides, it can also be added into the ice creams. It has been reported that 50 % soybean protein isolate is suitable to substitute skimmed milk powder in ice cream [69]. Results showed that adding pea protein isolate as a substitute for milk powder improved the physical and textural properties of ice cream, but the addition of pea protein has to be limited it to a certain amount [70].

However, until now, there is few reports about the use of pumpkin seed meal and pumpkinseed protein isolate in food products.

#### **Conclusions to Section 1**

According to the literature review, following conclusions were raised:

- 1. Pumpkin seed meal is a very valuable raw material with high nutritional value such as protein, dietary fiber, vitamins, minerals, etc., but it is usually wasted and fed to livestock. Pumpkin seed meal can be used in food products to improve the protein content and dietary fiber of food products. Its deep processing utilization in food industry should be investigated.
- 2. Pumpkin seed protein isolate extracted from pumpkin seed meal can be used as a functional food ingredient to improve the nutritional value and functional characteristics of food, such as solubility, water- and fat-holding capacity, emulsifying properties, foaming properties and gel-forming ability.
- 3. We summaries the methods to extract protein isolates including alkali dissolution and acid precipitation, ultrasonic, reverse micelle extraction, microwave method, etc. The ultrasound-assisted alkali treatment was selected to extract pumpkin seed protein isolate for its characteristics of simple, highly efficient and environmentally friendly.
- 4. pH-shifting treatment is a convenient method to improve the solubility, emulsifying ability, and gel characteristics of oilseed protein isolates.
- 5. Oilseed protein isolates such as soybean protein isolate are used in a variety of food items. However, there is currently no method available to produce sausages with the addition of pumpkin seed protein isolate.

# SECTION 2 OBJECTS, MATERIALS AND METHODS OF RESEARCH

## 2.1 Object, subjects and materials of research

The object of research in the dissertation was the technology of biscuits with the addition of pumpkin seed meal and the technology of sausage with the addition of pumpkin seed protein isolate.

The subjects of research were: extraction of pumpkin seed protein isolate, functional properties of pumpkin seed protein isolate, indicators such as sensory evaluation, nutritional and microbial indicators of biscuits and sausage.

#### **Materials**

Pumpkin seeds were bought from Zaozhuang Huadu E-commerce Co., Ltd (Zaozhuang, China). Low-gluten wheat flour, eggs, whole-fat milk powder, cooking oil, maltitol, sodium bicarbonate, ammonium bicarbonate, konjac powder, pork, casing, spices, edible salt, sugar, red koji powder, light soy sauce, and cooking wine were bought in local supermarket of Tai Xing in Hezhou city (China).

# **Equipment**

1. Spectrophotometer (722 Visible spectrophotometer, Youke Instrument Co., LTD, China); 2. Ultrasonic microwave synergistic extraction apparatus (XH-300B, Beijing xianghu, Beijing, China); 3. Mettler Toledo 1140 pH meter; 4. TA. XT plus Texture Analyzer with a P 0.5 probe; 5. the Zetasizer Nano-ZS90 (Malvern Instrument Ltd., UK); 6. NMR analyzer (NMI120, Niuman Electric Corp., China); 7. Differential scanning calorimeter (DSC 25 XX, TA Instruments, New Castle, DE, USA); 8. Fluorescence spectrophotometer (F-7000, Hitachi Corp., Japan); 9. JSM-5610LV SEM (JEOL, Tokyo, Japan). 10. BT-2001 Laser analyzer (Dandong Bettersize Instruments Ltd., Dandong, China); 11. MA150C-000230V1 moisture tester.

#### **Chemicals and solvents**

1-anilinonaphthalene-8-sulfonic acid (ANS), 5,5-dithiobis (2-nitrobenzoic acid) (DTNB), and β-mercaptoethanol were all acquired from Aladdin Chemical

Reagent Co. in Shanghai, China, and kept at 4 °C. The Nanjing Jiancheng Bioengineering Institute (Nanjing, China) provided all additional chemical reagents, which were of analytical grade. All experiments utilized deionized water.

The general methodology of conducting theoretical and experimental of research on the topic of the dissertation, the program of their implementation and practical application of research results is shown in Fig. 2.1.

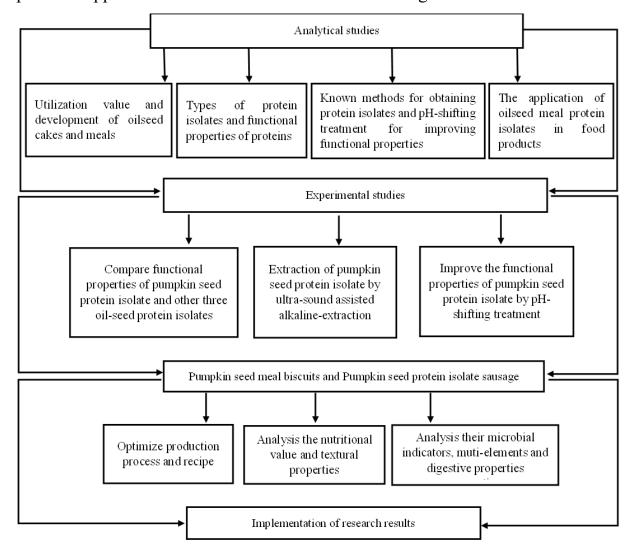


Fig. 2.1 Research Scheme

#### 2.2 Research methods

## 2.2.1 The extraction methods of four kinds of oilseed protein isolates

In this investigation, defatted peanut meal, defatted sunflower seed meal, defatted soybean meal, and defatted pumpkin seed meal were suspended in alkali solution at pH values of 10.5, 9.0, 9.0, and 9.5, respectively. The supernatant was separated by centrifugation ( $4000 \times g$ , 15 min) after extraction for one hour. The

extracts were separated into two layers after being filtered through filtered paper and acidified to a pH of 4.5. After recovering the protein precipitates using centrifugation at  $4000 \times g$  for 15 min, they were freeze-dried. The obtained samples were used to analyze the functional properties of four kinds of oilseed protein isolates.

# 2.2.2 Water-absorbing ability and oil-absorbing ability of PSPI powder

The method provided by Beuchat et al. was slightly modified to determine the oil- and water-absorbing capacities [71]. A 50 mL pre-weighed centrifuge tube was filled with the sample (2 g) and 18 mL of distilled water (or soybean oil). The mixtures were vortexed for 1 minute, stayed undisturbed at room temperature for 30 minutes, and then centrifuged ( $4000 \times g$ , 20 minutes). Extra free-flowing water (or oil), which was present after discarding the supernatant, was taken out. The amount of water or oil contained in per gram of the sample was then calculated from the tube's weight.

# 2.2.3 Emulsifying ability and emulsifying stability

Minor modifications were made to the methods used in a prior study to examine the emulsifying capabilities of PSPI and other three oilseed meal protein isolates (PEPI, SUPI, and SOPI) [72]. Soybean oil (2 mL) and 0.1 % protein dispersions (6 mL, 0.02 mol/L phosphate buffer, pH 7.0) were blended, and sheared (14,000 × g) for 1 min. At 0 and 10 minutes, 50 L of the emulsion were pipetted out of the bottom of the container and diluted with SDS solution (5 mL, 0.1%), respectively. A spectrophotometer (722 Visible spectrophotometer, Youke Instrument Co., LTD, China) operating at a 500 nm wavelength was used to examine the diluted emulsion. The Emulsifying ability indicator (EAI) and Emulsifying stability indicator (ESI) were calculated using the absorbance values recorded immediately after emulsification ( $A_0$ ) and taken after 10 min ( $A_{10}$ ,  $\Delta t$ ). The following formulae were used to determine the EAI and ESI [72]:

EAI 
$$(\frac{m_2}{g}) = 2T \frac{A_0 \times 100}{c \times \Phi \times 10000}$$
  
ESI  $(min) = \frac{A_0 \times \Delta t}{A_0 - A_{10}}$ 

Where T=2.303; dilution factor =100; C=soluble protein concentration per

volume (g/mL); and  $\Phi$ =total oil volume in emulsifying solution.

## 2.2.4 Foaming ability and foaming stability

The method outlined by Taiwo et al. with a little modification was used to test the foaming ability and foaming stability [73]. Protein was dissolved in 10 mL of phosphate buffer (0.02 mol/L; pH 7.0) and agitated for 1 hour. 5 mL of the solution were transferred to a 50 mL centrifuge tube and homogenized for 1 minute at 14000 × g. The following formula was used to compute the continuous phase's volume (foaming ability) [73]:

Foaming stability (%)

 $= \frac{(\text{volume after standing for 30 min - volume before whipping)ml}}{(\text{volume after whippingfor 30 min - volume before whipping)ml}}$ 

## 2.2.5 Wetting time

60 mL of distilled water was added in a 100 mL beaker and then mixed with the sample (0.3 g). Start timing simultaneously and continue until all of the powder are moist.

## 2.2.6 Solubility

The Bradford test was used to determine the soluble protein in PSPI. After being prepared and agitated for 1 hour at room temperature, the PSPI dispersion (1.0 mg/mL, w/v, pH 7.0) was centrifuged at  $4000 \times g$  for 20 min. The ratio between the soluble protein content and the total protein content was used to calculate the protein solubility of PSPI flour.

# 2.2.7 Preparation of defatted pumpkin seed flour

Prior to analysis, the pumpkin seeds were defatted using a LYT-501 oil press (Minjian oil press plant, Dongguan, China). Then they were ground and sieved through an 80-mesh sieve [74]. The flour/hexane mixture was stirred at a 1:5 (w/w) ratio for 1 h at 40 °C in triplicate to remove oil from pumpkin seed flour. The mixture was then dried in a fume hood at room temperature of 20 °C.

# 2.2.8 The alkali extraction method of pumpkin seed protein isolate assisted by ultrasonic sound

In this experiment, water and defatted pumpkin seed meal were combined in a 250 mL beaker. With a 2 N NaOH solution, the pH of the combination was adjusted and kept at 10.5. The ultrasonic studies were conducted at 25 MHz utilizing an ultrasonic unit with a maximum output of 1500 W and an ultrasonic microwave synergistic extraction device (XH-300B, Beijing xianghu, Beijing, China). The extraction process was carried out at various ultrasonic power (X<sub>1</sub>: 400–500 W), ultrasonic time (X<sub>2</sub>: 15–25 min), and ratio of liquid to solid (X<sub>3</sub>: 20–30 ml/g) based on prior investigations.

The product was extracted, centrifuged at  $4,000 \times g$  for 20 minutes to further remove the undissolved components, and then filtered from the supernatant. The filtrate was centrifuged at  $4,000 \times g$  for 15 min after being acidified with 2 N HC1 to pH 4.5. After being recovered, the pellet was centrifuged once more and then washed with distilled water. The pellet was freeze-dried and utilized to calculate PSPI yield and determine the protein content.

## 2.2.9 The pH-shifting methods of PSPI

The PSPI powder was dissolved in deionized water (1:30, w/w) to create a PSPI dispersion. Then the mixture was stirred for 1 h at 20 °C. The mixture was then adjusted to a succession of pH values (2, 4, 6, 8, 10, and 12) by 1 mol/L NaOH or 1 mol/L HCl, maintained for 1 hour, and adjusted to pH 7.0. The pH of the PSPI samples was determined using a Mettler Toledo 1140 pH meter [75]. After being dialyzed, the mixture was lyophilized. PSPI samples were designated as PSPI 2, PSPI 4, PSPI 6, PSPI 8, PSPI 10, and PSPI 12 after being subjected to pH-shifting for 1 hour at various pH levels. With the exception of the pH-shifting treatment, the control PSPI was treated using the identical procedures as above.

All of the PSPI samples were kept in storage at 4 °C for future analysis.

# 2.2.10 Preparation of PSPI gel

A deionized water-based PSPI dispersion (20%, w/w) was incubated at 95 °C in a water bath for one hour. The produced PSPI gels were stored for 24

hours at 4 °C. The PSPI gels were used to test the water-absorbing ability after equilibration at 25 °C for 30 min.

# 2.2.11 Water-absorbing ability of SPI gel

The reported method was used to analyze the water-absorbing ability [76]. After being centrifuged at  $10,000 \times g$  for 15 min, the weighted PSPI gel (W<sub>1</sub>) was inverted on the filter paper for 20 min. The PSPI gel was then weighed (W<sub>2</sub>) for a second time. The water-absorbing ability was determined by:

Water-absorbing ability (%) = $W_2/W_1 \times 100\%$ 

# 2.2.12 Textural analysis

The textural analysis was carried out by TA. XT plus Texture Analyzer. P/0.5 probe was used to analyze the textures of PSPI gels and P/36R probe was used to analyze the textures of pumpkin seed meal biscuits and pumpkin seed protein isolate sausage. The post-test, test, and pre-test speeds were set at 2.0 mm/s, 1.0 mm/s, 1.0 mm/s, respectively. According to the test results, the parameters of the samples were obtained.

# 2.2.13 Average particle size and zeta potential of soluble protein in PSPI

With a small modification to the previously reported method, the Zetasizer Nano-ZS90 (Malvern Instrument Ltd., UK) was used to measure the particle size distribution and zeta potential of the soluble protein in PSPI [58]. The PSPI (1.0 mg/mL, w/v, pH 7.0) dispersion was centrifuged at 10,000 × g for 15 minutes after being agitated for 1 hour at 25 °C to obtain the supernatant. 1 ml of the supernatant was put into the quartz cuvette and zeta potential sample chamber, respectively. Each measurement was made three times.

# 2.2.14 Sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gel electrophoresis (SDS-PAGE) of soluble protein in PSPI

With a few minor modifications, the described method was used to do SDS-PAGE [77]. The PSPI dispersion (2 mg/mL) was prepared, and the supernatant was obtained by centrifuging the mixture. 20 uL SDS-PAGE sample loading buffer (5%) and 80 uL supernatant were mixed, heated at 100 °C for 5 minutes,

and then kept to cool to room temperature. With 5% stacking gel and 12% separating gel, electrophoresis was carried out at 80 V for 35 minutes, followed by 120 V for around 40 minutes. Proteins were visible by using Coomassie Brilliant Blue R-250 staining.

# 2.2.15 LF-NMR spin-spin relaxation (T<sub>2</sub>) measurements

The transverse relaxation time  $(T_2)$  was calculated by an NMR analyzer (NMI120, Niuman Electric Corp., China). The proton resonance frequency of the NMR analyzer was 18 MHz. The parameters of TW was 2000 ms and NECH was 10,000 echoes. Multi Exp Inv software is used to examine the  $T_2$  data.

# 2.2.16 Thermal properties of PSPI

A differential scanning calorimeter (DSC 25 XX, TA Instruments, New Castle, DE, USA) was used to measure the thermal characteristics of PSPI, and it was modified slightly from the reported approach [78]. The aluminum pan was filled with deionized water of 10 ul and 2 mg PSPI flour. Using a sealed empty pan as a reference, the hermetically sealed pans were heated at a rate of  $10 \,^{\circ}$ C/min between 25 and 120 °C in an inert environment of nitrogen gas (50 ml/min). The Universal Analysis Software (Version 1.9 D, TA Instruments, New Castle, DE) was used to calculate the curves' onset temperature (To), peak temperature (Tp), and enthalpy of denaturation ( $\Delta$ H).

# 2.2.17 Free sulfhydryl group contents and disulfide bond contents

The detection of total sulfhydryl group (SH<sub>T</sub>), free sulfhydryl group (SH<sub>F</sub>), and disulfide bond (SS) contents of PSPI was carried out using a method that has already been published, with a few minor adjustments [79]. The PSPI samples (60 mg) were added to 10.0 mL of standard buffer, which contains 8 mol/L of urea and contains 0.086 mol/L Tris, 0.09 mol/L glycine, and 0.004 mol/L EDTA. After stirring PSPI for 1 hour, it was centrifuged at  $10,000 \times g$  for 10 minutes to get the supernatant, whose concentration was evaluated using the Bradford test. Ellman's reagent (4 mg/ml DTNB) and 2.0 ml supernatant were blended for 5 minutes to determine the SH<sub>F</sub> content. The mixture absorbance at 412 nm was then immediately measured. The supernatant of 2.0 mL was mixed with 0.2%  $\beta$ -

mercaptoethanol and 12% trichloroacetic acid (TCA) of 4 mL to determine the  $SH_T$  level. To obtain the precipitate, the mixture was centrifuged at  $10,000 \times g$  for 10 min after 1 h. The precipitate was dissolved in a 3 ml Tris-Glycine buffer solution after being washed with TCA four times. The following formulae [79] were used to calculate the  $SH_T$ ,  $SH_F$ , and SS contents (mol/g):

$$SH_T/SH_F$$
 (µmol/g) = 73.53  $A_{412}/C$ ;  $SS$  (µmol/g) =  $(SH_T-SH_F)/2$ 

Where  $A_{412}$  is the absorbance at 412 nm and C is the protein concentration of PSPI in the supernatant (mg/mL).

# 2.2.18 Surface hydrophobicity

The fluorescent probe of ANS was used to measure the surface hydrophobicity ( $H_0$ ) of PSPI [80]. First, 0.01 mol/L of phosphate buffer (pH 7.0) was used to dissolve PSPI (2 mg/mL), after which it was vortexed for two minutes. As the stock PSPI solution, the supernatant was produced by centrifugation at  $4000 \times g$  for 15 min. Bradford test was used to determine its concentration. Then, stock PSPI supernatant was diluted with 0.01 mol/L pH 7.0 phosphate buffer to make five PSPI concentrations that ranged from 0.02 to 0.50 mg/mL. Phosphate buffer (0.01 M, pH 7) was used to make the 8 mM stock solution of ANS. 20 uL of ANS and 4 mL of protein solution were mixed, and the absorbance was measured at 390 nm excitation and 470 nm emission with 5 nm slits. The slope of the linear regression between protein concentration and fluorescence intensity was used to calculate the  $H_0$  index.

# 2.2.19 Intrinsic fluorescence spectroscopy

According to the described procedure [81], a fluorescence spectrophotometer (F-7000, Hitachi Corp., Japan) was used to measure the intrinsic fluorescence spectroscopy of PSPI. First, phosphate buffer (10 mmol/L, pH 7.0) was used to disperse PSPI (1 mg/mL). Then the intrinsic fluorescence of PSPI solution were measured at 280 nm excitation and 300~400 nm emission. The fluorescence spectra were collected at a scanning rate of 2400 nm/min. It was decided to use slit widths of 5 nm for the excitation and 2.5 nm for the emission. All samples were examined in triplicate and phosphate buffer (0.01 mol/L, pH 7.0)

was used as the control.

# 2.2.20 Scanning electron microscopy (SEM)

SEM was used to determine the surface topography of PSPI using a previously described approach [82]. To prevent charging under the electron beam, the dry sample was coated with a gold layer, mounted on a Luminal specimen holder, and equally distributed on double-sided Scotch tape. A JSM-5610LV SEM (JEOL, Tokyo, Japan) was used to examine the microstructure of PSPI.

# 2.2.21 Particle size determination of PSPI samples

With air serving as the dispersion medium, the particle size distributions of control PSPI, PSPI 2, PSPI 4, PSPI 6, PSPI 8, PSPI 10, and PSPI 12 were measured using a BT-2001 Laser analyzer (Dandong Bettersize Instruments Ltd., Dandong, China) [83]. The particle size range of the instrument was 0.1 from 1000 µm. The laser analyzer was according to dynamic light scattering. Based on their unique surface areas, the particle sizes of the PSPI samples were measured. Every sample was detected in triplicate.

# 2.2.22 The making process of pumpkin seed meal biscuits

On the basis of the mixed powder, of which the addition ratio of low-gluten wheat flour, pumpkin seed meal, and konjac flour was 2:2:1, 6 % plant oil, 10% butter, 30% maltitol, 40% eggs, 16% water, 0.5% sodium bicarbonate, and 0.2% ammonium bicarbonate were used.

Melt the butter first. Then, after dissolving the appropriate amount of maltitol in water, add the oil, sodium bicarbonate, ammonium bicarbonate, and entire egg liquid. Next, combine these mixtures with konjac powder, low-gluten wheat powder, and pumpkin seed meal powder. After forming a dough, let it rest for five minutes. The dough had to be smooth, evenly distributed, moderate in soft and hard, and a little bit flexible. Flatten the dough into a 2 mm-thick pancake. Next, set the mold of pancake on the baking sheet that has been lined with oil paper. In order to bake the biscuits to a light brown color, place the loaded cake embryo in an oven that has been preheated to 160 °C for 25 minutes. Remove the baked biscuits and allow them to cool to room temperature naturally.

# 2.2.23 Single-factor experimental design of making biscuits

- (1) Based on the fundamental formula, the ratio of low-gluten wheat flour, pumpkin seed meal, and konjac flour was established as 2:2:1, 1.5:2:1.5, 1:2:1, 2:1:1, and 1:1:1, respectively, and their variations in hardness and organoleptic quality were determined.
- (2) Based on the fundamental formula, the five groups of plant oil were assigned percentages of 8, 6, 4, 2, and 0 % while the five groups of butter were assigned percentages of 8, 10, 12, 14, and 16 % based on the same calculation. Biscuits were made with a total oil of 16 %, and their variations in hardness and organoleptic quality were determined.
- (3) Based on the fundamental formula, maltitol of 15, 20, 25, 30, and 35 % was added, respectively, and their variations in hardness and organoleptic quality were determined.

# 2.2.24 Orthogonal experimental design of making biscuits

The values of the addition ratio of major components (low-gluten wheat powder, pumpkin seed meal powder, konjac powder), the addition ratio of plant oil and butter, and the addition amount of maltitol for the L<sub>9</sub> (3<sup>4</sup>) orthogonal test were obtained based on the single factor studies. The table below (Table 2.1) displays the test factors and its levels. It was determined how their alterations in hardness and organoleptic quality changed.

Table 2.1 Factors and levels of orthogonal test

	Factors					
Levels	The addition of low-gluten wheat	The addition of	The			
	powder, pumpkin seed meal		addition of			
	powder, konjac powder	plant oil and butter	maltitol			
1	1:2:1	6 %, 10 %	20 %			
2	2:2:1	4 %, 12 %	25 %			
3	2:1:1	2 %, 14 %	30 %			

The results of the single-factor experimental design were used to determine the factors and levels of orthogonal test. The experiments were carried out in accordance with this design, and the ideal recipe was attained.

# 2.2.25 The making process of pumpkin seed protein isolate sausage

The ingredients were added on this basic amount of meat (200 g). The additions of edible salt, sugar, light soy sauce, cooking wine, thirteen incense, red coloring agent, modified starch was 1, 1, 1.5, 1, 0.1, 0.1 and 1 g/100 g, respectively. A modest amount of ginger and garlic were also added.

First, clean the meat and cut them into little pieces. Then, add pumpkin seed protein isolate to the casing after the meat has been marinated for longer than 30 minutes and minced. Afterwards, the sausage underwent air drying, baking, sterilization, cooling, and packaging.

## 2.2.26 The single factor tests of pumpkin seed sausage

In the current study, the individual effects of lean meat (50, 60, 70, 80, and 90 g/100 g), pumpkin seed protein isolate (0.75, 1.5, 2.25, 3.0, and 3.75 g), cooking time (30, 35, 40, 45, and 50 min), and baking time (1, 1.5, 2.0, 2.5, and 3 h) on the quality of pumpkin seed protein isolate were determined. To examine the effects of each individual factor, the basic amounts of pumpkin seed protein isolate, lean meat, cooking time, and baking time were set at 2.25 g/100 g, 60 g/100 g, 40 min, and 2.5 h, respectively. The sensory assessment and textural analysis of hardness were used as evaluation indicators.

# 2.2.27 The Orthogonal test of pumpkin seed sausage

The orthogonal test was used to determine the best formula after each factor had undergone a single factor test. The factors and levels of the orthogonal test were designed as shown in Table 2.2.

# 2.2.28 Determination of chemical compositions

Fat, protein, ash, dietary fiber content of the samples were determined according to the Chinese National Food Safety Standards GB 5009.6-2016 [84], GB 5009.5-2016 [85], and GB 5009.4-2016 [86], GB 5009.88-2014 [87], respectively.

	Factors				
Levels	Pumpkin seed protein	Lean meat (B,	Cooking time (C,		
	isolate (A, g/100 g)	g/100 g)	min)		
1	1.5	60	35		
2	2.25	70	40		
3	3.0	80	45		

#### 2.2.29 Determination of moisture

The moisture content of samples was measured with MA150C-000230V1 moisture tester. Pulverize the biscuits and pass them through a 40-mesh sieve, accurately weigh 1.00 g of the sample on the sample pan, spread it evenly, close the heating mantle, adjust the heating temperature of the instrument to the highest temperature of 105 °C, click the start button, and the equipment will start to heat and measure. When the mass loss of the sample is less than 1.0 mg within 1 min, the instrument automatically stops heating, and the moisture content of the sample is directly read from the instrument.

#### 2.2.30 Postprandial glycemic index determination of biscuits

The method for measuring the glycemic index of biscuits was formulated with reference to the "Measurement Method of Food Glycemic Index" [88]. Testers did not consume high-fiber and high-sugar foods the day before the test and fasted before 22:00. After collecting the fasting blood samples, texters consumed biscuits containing 40 g of glucose or the same amount of available carbohydrates and 250 mL of water, and the timing was started from the first bite, and 30, 45, 60, 90 and 120 minutes after meals, respectively. Blood glucose concentration was measured. Taking the time as the abscissa and the blood glucose concentration as the ordinate, the blood glucose response curve is drawn. The GI value equals the area under blood glucose response curve after a meal of foods containing 40 g of available carbohydrates about 2 hours divided by the

area under the blood glucose response curve about 2 hours of a meal of 40 g glucose [89].

#### 2.2.31 Microbial analysis

The microbial measurement indicators of biscuits and sausage include total microbial population and Staphylococcus aureus count. They were determined according to the Chinese National Food Safety Standards GB 4789.2-2016 [90] and GB 4789.3-2016 [91], respectively.

#### 2.2.32 Determination of multi-element contents

The multi-element contents were determined according to the Chinese National Food Safety Standards GB 5009.268-2016.

# 2.2.33 Determination of digestive properties of biscuits

The digestive properties of biscuits was determined according to a previous method [92]. (1) Preparation of glucose standard curve. The standard curve was made by taking the absorbance at 540 nm wavelength as the vertical coordinate and the concentration of glucose standard solution as the horizontal coordinate. (2) The hydrolysis rate (HR) of starch was determined. Accurately weigh 0.5 g of the sample and place it into a 50 mL centrifuge tube with a swiveling cover. Add 10 mL 0.2 mol/L sodium acetate buffer of pH 5.2 and 5 glass beads. After vortex mixing, the enzyme mixture containing 10 mL trypsin (320 U/L) and 40 μL saccharifying enzyme (10 000 U/mL) was added to each test tube, and the test tube was placed in a 37 °C thermostatic oscillating water bath for incubation at 170 r/min. After hydrolysis for 10, 20, 30, 60, 90, 120, 150 and 180 min, 1.0 mL hydrolysate was taken out, and then mixed with 4 mL anhydrous ethanol. The enzyme reaction was stopped, and the glucose content was determined by dinitro salicylic acid (DNS) method. The hydrolysis rate (HR) of biscuit starch was calculated. White bread was used as a blank control.

## 2.2.34 Determination of digestive properties of sausage

4.0 g sausage sample was used for determination protein digestibility. One part was only digested with pepsin, and the other part was digested with pepsin and trypsin by two steps. The digested mixture was immersed in alcohol overnight,

cooled and centrifuged  $(10,000 \times g, 20 \text{ min}, 4 ^{\circ}\text{C})$ , and the supernatant was discarded. The precipitation was dried to a constant weight at 50  $^{\circ}\text{C}$ , and the data were recorded. The protein content of sausage samples and dried residues was determined by the Kjeldahl nitrogen determination method. The calculation equation of digestibility is as follows:

$$DT(\%) = \frac{W_0 - W_1}{W_0} \times 100\%$$

Where, DT is protein digestibility in vitro,  $W_1$  is protein content in dried sediment after digestion (g), and  $W_0$  is protein content in sausage samples before digestion (g).

## 2.3 Laboratory research protocols

The research was carried out at Hezhou University in China, Sumy National Agricultural University in Ukraine, the results of experiments are confirmed by relevant research protocols. Research protocols are given in the Addition A. "Protocols of experimental data".

# 2.4 Statistical analysis

All measurements were made in triplicate except as otherwise noted. The mean value of the results was given, along with the standard deviation (SD). A one-way analysis of variance (ANOVA) was conducted to determine which independent variables had a significant difference (p<0.05). For data processing and analysis, SPSS software (version 26.0; SPSS Inc., Chicago, IL, USA) was used.

# SECTION 3 TECHNOLOGY FOR OBTAINING PROTEIN ISOLATE FROM PUMPKIN SEED MEAL AND IMPROVING THE FUNCTIONAL PROPERTIES BY PH-SHIFTING TREATMENT.

# 3.1 Compare the functional properties of pumpkin seed protein isolate to three oilseed protein isolates

The functional characteristics of four different protein isolates, including peanut protein isolate (PEPI), pumpkin seed protein isolate (PSPI), sunflower seed protein isolate (SUPI), and soybean protein isolate (SOPI), were examined. These functional characteristics included oil-absorbing ability, water-absorbing ability, wetting time, emulsifying ability, emulsifying stability, foaming ability, and foaming stability.

#### 3.1.1 The oil-absorbing ability of PEPI, PSPI, SOPI, and SUPI.

Comparing the advantages and disadvantages of the functional characteristics of PSPI to other three commonly used oilseed protein isolates will provide further application basis of PSPI.

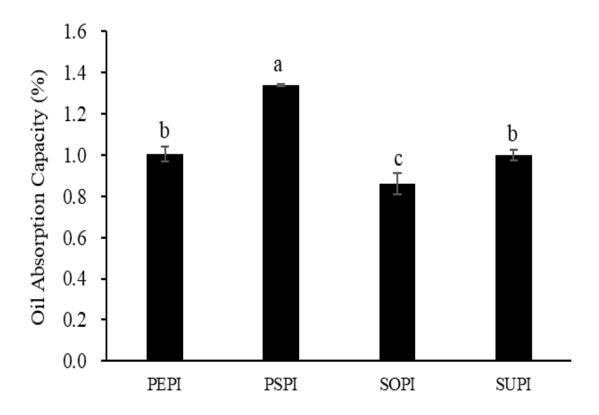


Fig. 3.1 The oil-absorbing ability of PEPI, PSPI, SOPI, and SUPI

Oil-absorbing ability is known as the amount of oil that can be absorbed into a protein per unit [93]. It can increase the capacity of food for absorbing and retaining fat, lower the amount of fat lost during production, and enhance the flavor and palatability. The oil-absorbing ability of of PEPI, PSPI, SOPI, and SUPI was evaluated in the present study. According to Fig. 3.1, PSPI had the highest oil-absorbing capacity (1.34 mL/g), which was 1.34 times greater than PEPI (1.00 mL/g) and SUPI (1.00 mL/g), and 1.56 times greater than SOPI (0.86 mL/g).

There was no significant difference between the oil-absorbing capacity values of PEPI and SUPI, despite the fact that oil-absorbing ability of PSPI was significantly (p < 0.05) higher than other three protein isolates. The PEPI and SUPI showed better oil-abosrbing ability than SOPI. Proteins which have high oil-absorbing ability can be used in the food industry to make extenders, meat replacements, and ground meat. These reasults might indicate that PSPI have more benefit when it comes to decrease the loss of fat in meat processing, lowering the amount of fat consumed during frying and improving the flavor of the products.

# 3.1.2 The water-absorbing ability of PEPI, PSPI, SOPI, and SUPI.

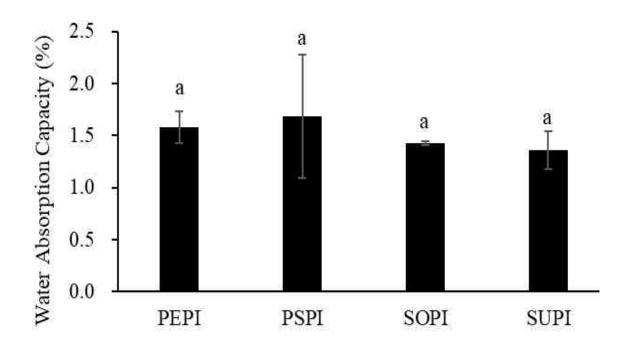


Fig. 3.2 The water-absorbing ability of PEPI, PSPI, SOPI, and SUPI

The amount of water that a unit weight of a protein can absorb is indicated by its water-absorbing ability [93]. High water absorption not only lowers product costs but also gives the product the desired juiciness and aids in emulsification. As presented in Fig. 3.2, the water-absorbing ability of PEPI, PSPI, SOPI, and SUPI was 1.58 mL/g, 1.69 mL/g, 1.42 mL/g, and 1.36 mL/g, respectively. These four protein isolates showed no difference ((p < 0.05)), which might suggest that their capacity to absorb water during food processing is comparable.

# 3.1.3 The wetting time of PEPI, PSPI, SOPI, and SUPI.

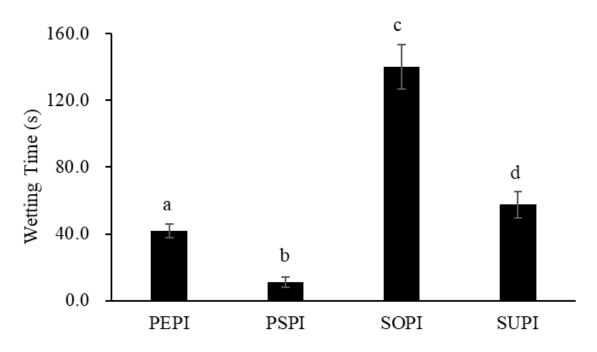


Fig. 3.3 The wetting time of PEPI, PSPI, SOPI, and SUPI

Oilseed proteins and water can interact throughout a period of time known as wetting time. Wetting time was visually inspected to ensure that it matched the amount of time required to wet all the particles. Short wetting times demonstrate that oilseed proteins can quickly interact with water and become wet. According to Fig. 3.3, PSPI had the shortest wetting time (11.02 s), which was lower than PEPI (41.80 s), SUPI (57.44 s), and SOPI (139.94 s). The result showed that PSPI has the quickest wetting time when compared to that of PEPI, SOPI, and SUPI, which might demonstrate that when PSPI is utilized as a functional component in food products, the wetting stage may consume less time.

#### 3.1.4 The foaming ability of PEPI, PSPI, SOPI, and SUPI.

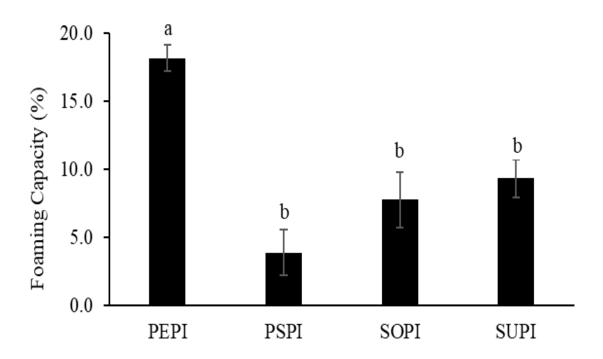


Fig. 3.4 The foaming ability of PEPI, PSPI, SOPI, and SUPI

The protein capacity to foam depends on a variety of factors, including ionic strength, pH, evaporation, the system, temperature, the competitive adsorption of other proteins, as well as its own interfacial properties, which include the capacity to reduce surface tension, flexibility of molecular structure, amphiphilicity, charge distribution, and other physicochemical properties [34]. Protein isolates are frequently employed in food industry to aid in the production and stabilization of food foam. Food systems like beverages, desserts, and whipped toppings, foam formation is very important to their structures [94]. According to Fig. 3.4 of this study, PEPI (18.18 %) had the highest foaming ability, which was almost 4.69 times greater than PSPI (3.88 %), 2.34 times greater than SOPI (7.76 %), and 1.95 times greater than SUPI (9.33 %). However, there was no significant difference (p < 0.05) between the foaming capacities of PSPI, SOPI, and SUPI. Higher foaming ability of PEPI may suggest that PEPI has more potential for application in desserts like cakes.

# 3.1.5 The foaming stability of PEPI, PSPI, SOPI, and SUPI.

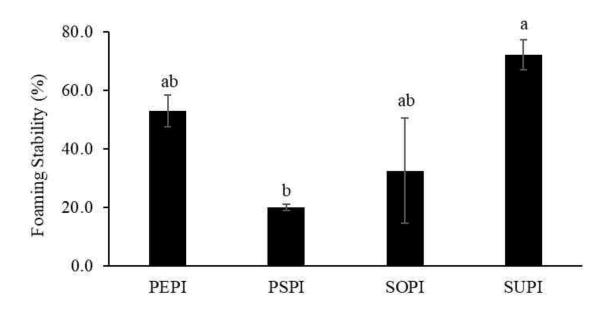


Fig. 3.5 The foaming stability of PEPI, PSPI, SOPI, and SUPI

Foaming stability is also an important property for cake and ice cream. According to Fig. 3.5, SUPI had the highest foaming stability of 72.04 %, which was 1.36 times higher than PEPI (52.96 %), 3.60 times higher than PSPI (20.00 %), and 2.21 times higher than SOPI (32.54 %). It might indicate that the foaming stability of SUPI is greater than PSPI when they are used in the ice cream or dessert manufacturing process.

# 3.1.6 The emulsifying ability of PEPI, PSPI, SOPI, and SUPI.

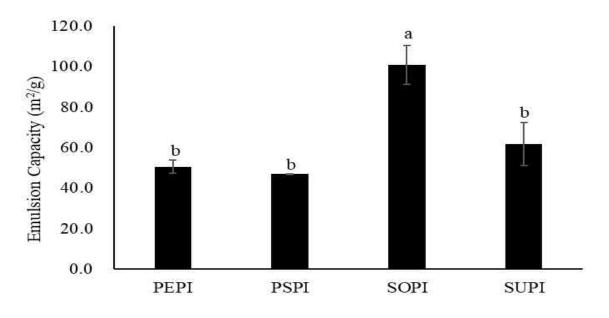


Fig. 3.6 The emulsifying ability of PEPI, PSPI, SOPI, and SUPI

Emulsions are thought to be a type of dispersion in which tiny droplets are surrounded by a liquid phase. The food industry uses two different kinds of emulsions. One is oil-in-water mixture (O/W), such as milk and ice creams. Another is water-in-oil (W/O) mixture, such as butter and margarine [95]. Emulsions are formed in the presence of an emulsifier. A type of emulsifier known as protein has both polar and non-polar amino acid residues. Emulsifying characteristics have frequently been determined by emulsifying stability and emulsifying ability. The definition of emulsifying ability is the amount of oil emulsified by a specific unit of emulsifier at the emulsifying collapse point [96]. As presented in Figure 3.6, the emulsifying capacity of SOPI (100.84 m<sup>2</sup>/g) was 1.99 times more than PEPI (50.57 m<sup>2</sup>/g), 2.14 times greater than PEPI (47.08  $m^2/g$ ), and 1.63 times greater than SUPI (61.82  $m^2/g$ ). Other three protein isolates showed no differences. Among all four protein isolates, SOPI demonstrated the best emulsifying performance in this investigation. The emulsifying properties of soybean protein has long been used as a processing aid in the field of crushed meat.

# 3.1.7 The emulsifying stability of PEPI, PSPI, SOPI, and SUPI.

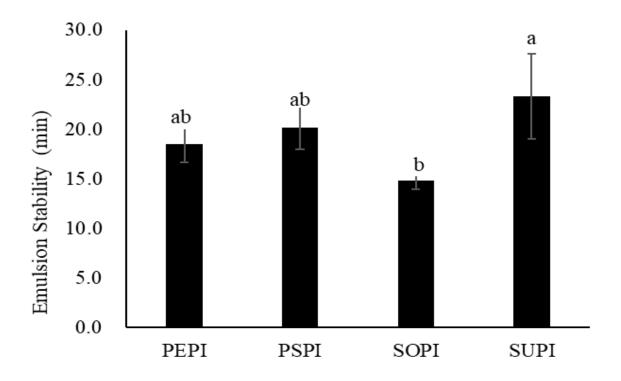


Fig. 3.7 The emulsifying stability of PEPI, PSPI, SOPI, and SUPI

One of the vital functions of proteins is emulsification, which helps keep the stability of scattered and continuous phases in food [97]. The capacity of an emulsifier to stabilize an oil-water mixture is known as emulsifying stability. Otherwise, it might lead to phase separation. As seen in Fig. 3.7, SUPI had the maximum emulsifying stability (23.30 min), which was 1.26 times greater than PEPI (18.47 min), 1.16 times greater than PSPI (20.13 min), and 1.57 times greater than SOPI (14.83 min). The emulsifying stability of SOPI, PEPI, and PSPI showed no significant difference. However, SOPI had a greater emulsifying capacity than that of SUPI and SUPI had a greater emulsifying capacity than that of SOPI. This result demonstrated that SUPI has superior properties over SOPI for maintaining the stability of an oil-water mixture during food processing, like ice cream.

#### 3.1.8 The amino acid of PEPI, PSPI, SOPI, and SUPI.

Essential amino acids and non-essential amino acids are the two types of amino acids that make up protein in the human body. Essential amino acids are those that the human body is unable to produce on its own and must be obtained from exogenous foods or amino acid supplements. Ile, leu, Lys, Met, Trp, Thr, Phe, and Val are the eight essential amino acids. Table 3.1 displays the amino acid composition of SOPI, PEPI, PSPI, and SUPI.

Because soybean protein isolate had a high lysine level and a low methionine content, it was the perfect complement to cereal protein in terms of amino acids [98]. Eight necessary amino acids are present in peanut protein, which is very readily digested and assimilated by humans (its digestion coefficient might exceed 90 %). Its amino acid content is complete, amino acid ratio is reasonable [100]. The protein from sunflower seeds is also a good source of aromatic amino acids. It has all essential amino acids that the human body needs and can supply children histidine. Compared to the amino acid composition of SOPI, PEPI, and SUPI, the PSPI contained higher content of Arg (16.04 mg/100 mg), Gly (5.17 mg/100 mg), Met (2.57 mg/100 mg) and Val (5.60 mg/100 mg). It suggested that PSPI have certain advantages when it is introduced into food products.

 $\label{eq:table 3.1} Table \ 3.1$  Amino acid composition (mg/100 mg protein) of SOPI, PEPI, PSPI and SUPI

Amino	SOPI	PEPI	PSPI	SUPI	FAO/WHO	FAO/WHO
Acid					For	For adult
					children	
Ala	4.1	3.81	4.84	4.14		
Arg	7.6	12.33	16.04	10.55		
Asp	11.6	11.81	7.12	9.47		
Cys	1.2	1.50	0.45	0.47		
Glu	19.8	24.61	20.61	24.91		
Gly	4.1	4.02	5.17	4.9		
His	2.6	2.78	1.52	2.66	1.9	1.6
Ile	4.8	3.15	4.14	4.51	2.8	1.3
Leu	7.7	6.43	7.82	6.29	6.6	1.9
Lys	6.0	2.60	3.38	2.29	5.8	1.60
Met	1.3	1.12	2.57	1.93		
Phe	5.2	5.41	5.32	5.47		
Pro	5.6	4.93	3.82	2.71		
Ser	5.2	5.16	4.43	3.85		
Thr	3.6	2.51	2.19	3.17	3.4	0.9
Trp	1.3	-	2.10	-	1.1	0.5
Tyr	3.7	4.12	2.90	2.99		
Val	4.7	3.78	5.60	4.8	3.5	1.3
Reference	[98]	[99]	[16]	[100]		

# 3.2 Extraction of pumpkin seed protein isolate

## 3.2.1 The influence of ratio of solid to liquid on protein extraction yield)

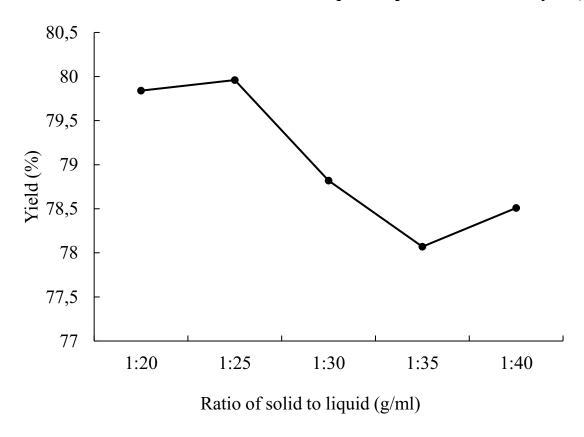


Fig. 3.8 The influence of ratio of solid to liquid on protein extraction yield

As can be seen from Fig. 3.8, different ratios of solid to liquid had a great impact on the protein extraction yield of pumpkin seed protein isolate. When the ratio of solid to liquid altered from 1:20 to 1:25, the protein extraction yield showed increased value. When the ratio altered from 1:25 to 1:35, the protein extraction yield showed decreased value. In theory, the higher the amount of solvent, the higher the protein extraction yield, but when the amount of solvent reached a certain value, the extracted protein concentration in solvent and protein concentration in pumpkin seed meal gradually became balanced, the extraction yield reached the highest value [101]. Continuing to increase the amount of solvent not only causes the protein concentration decreased per unit, and waste solvent and energy, but also brings difficulties to the subsequent concentration process [102]. Therefore, the ratios of solid to liquid of 1:20, 1:25 and 1:30 were selected to do the orthogonal experiment.

#### 3.2.2 The influence of extraction powers on protein extraction yield

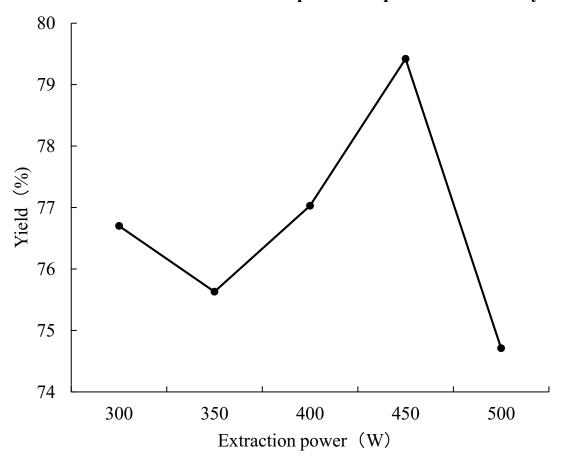


Fig. 3.9 The influence of extraction powers on protein extraction yield

As can be seen from Fig. 3.9, ultrasonic power has a great influence on the yield of PSPI. The protein extraction yields at 300 W and 350 W were 76.7% and 75.63%, respectively. The protein extraction yield improved significantly when ultrasonic power increased from 350 W and 450 W, and the optimal extraction rate was detected at ultrasonic power of 450 W and its extraction rate was 79.42%. The protein extraction yield decreased from extraction power of 450 W to 500 W, which might be due to that the acoustic cavitation caused by high ultrasonic power seriously broke the structure of protein molecular, reconstituted the proteins and changed the isoelectric point, as a result, the extraction rate and protein purity reduced [103]. Therefore, it is appropriate to select ultrasonic power of 400, 450 and 500 W to do the orthogonal test.

#### 3.2.3 The influence of extraction time on protein extraction yield

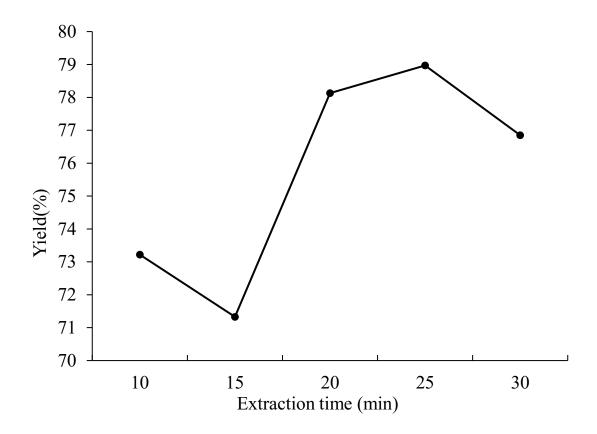


Fig. 3.10 The influence of extraction time on protein extraction yield

According to Fig. 3.10, the protein extraction yield increased first when the extraction time increased from 15 to 25 min and then decreased when the extraction time increased from 25 to 30 min. It has been demonstrated that the cavitation effect and mechanical effect of long-time ultrasonic treatment might break protein peptide bonds, denature amino acid side chain, or change the protein structure by condensation reaction with other molecules [104], resulting in reduced extraction rate and protein purity. Therefore, the extraction time of 15, 20, and 25 min were selected for orthogonal test.

# 3.2.4 Results of the optimum extraction conditions (ultrasonic power, ultrasonic time and ratio of liquid to solid)

In Table 3.2, the three levels of variation explored for the independent variables  $X_1$  (ultrasonic power),  $X_2$  (ultrasonic time), and  $X_3$  (ratio of liquid to solid) are presented.

Table 3.2 Independent variables and levels for Box–Behnken design

Independent variables	Symbol	Level			
independent variables	Symbol	-1	0	1	
Ultrasonic power (W)	$X_1$	400	450	500	
Ultrasonic time (min)	$X_2$	15	20	25	
Ratio of liquid to solid (ml/g)	$X_3$	20	25	30	

Table 3.3 shows the yield of pumpkin seed protein isolate (PSPI) using the Box-Behnken experimental design. The following equation describes the quadratic model that was used in the response surface:

$$Y = 80.93 + 1.63X_1 + 3.04X_2 + 1.27X_3 - 4.46X_1^2 - 3.38X_2^2 - 1.27X_3^2 - 0.042X_1X_2 - 1.52X_1X_3 - 0.74X_2X_3$$

Table 3.3 Box-Behnken design arrangement, responses for protein yield of ultrasound-assisted alkaline extraction on pumpkin seed protein isolate (PSPI)

Run	X <sub>1</sub> : Ultrasonic power (W)	X <sub>2</sub> : Ultrasonic time (min)	X <sub>3</sub> : Ratio of liquid to solid (ml/g)	Yield (g/100 g)	Predicted Value (g/100 g)
1	1	1	0	77.79	77.72
2	1	0	-1	78.13	77.09
3	0	0	0	80.56	80.93
4	1	-1	0	70.59	71.72
5	1	0	1	76.59	76.57
6	-1	-1	0	68.31	68.38
7	0	1	1	79.77	79.86
8	-1	0	1	75.32	76.36
9	-1	0	-1	70.77	70.79
10	0	-1	-1	71.34	71.25
11	-1	1	0	75.68	74.55
12	0	1	-1	77.68	78.80
13	0	-1	1	76.37	75.25
14	0	0	0	80.95	80.93
15	0	0	0	81.29	80.93

The analysis of variance (ANOVA) findings (Table 3.4) showed that the ratio of liquid to solid, ultrasonic power, and ultrasonic time all exhibited significant positive linear effects. The coefficient of determination ( $R^2$ ) was 0.9681, indicating an excellent model fit for the model's ability to account for 96.81% of the total variation. The model appeared to be significant because the adjusted determination coefficient's ( $R_{Adj}^2$ ) value was 0.9107. The experimental values had a very high degree of precision and good reliability, as indicated by the coefficient variation (CV) value of 1.61.

Table 3.4 Analysis of the variance (ANOVA) of the quadratic model

Sauras	Sum of	df	Mean	E Volue	p-value	
Source	Squares		Square	F-Value	Prob > F	
Model	228.95	9	25.44	16.87	0.0031	
$A_1$	21.19	1	21.19	14.05	0.0133	
$A_2$	73.87	1	73.87	48.98	0.0009	
$A_3$	12.83	1	12.83	8.50	0.0332	
A <sub>12</sub>	0.0072	1	0.0072	0.0048	0.9475	
A <sub>13</sub>	9.27	1	9.27	6.15	0.0559	
A <sub>23</sub>	2.16	1	2.16	1.43	0.2850	
A <sub>11</sub>	73.58	1	73.58	48.78	0.0009	
$A_{22}$	42.10	1	42.10	27.91	0.0032	
A <sub>33</sub>	5.92	1	5.92	3.93	0.1043	
Residual	7.54	5	1.51			
Lack of Fit	7.27	3	2.42	18.17	0.0526	
Pure Error	0.27	2	0.13			
Cor Total	236.49	14				
$R^2=0.9681$ $R_{Adj}^2=0.9107$ $CV=1.61$						

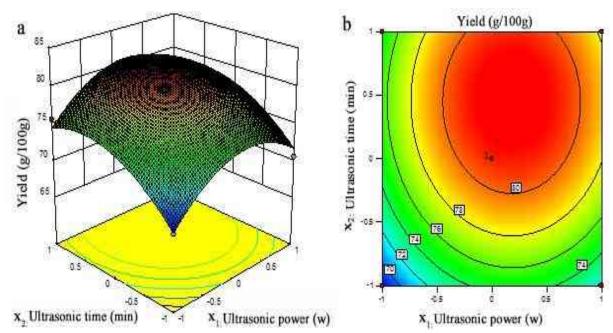


Fig. 3.11 Response surfaces (a) and contour plots (b) showing effects of extraction variables (X<sub>1</sub>, ultrasonic power; X<sub>2</sub>, ultrasonic time; X<sub>3</sub>, ratio of liquid to solid) on the ultrasound-assisted alkaline extraction and acid precipitation (UAAE) yield of pumpkin seed protein isolate (PSPI)

Figure 3.11 a, b shows the effects of ultrasonic power  $(X_1)$  and ultrasonic time  $(X_2)$  on the PSPI extraction yield while the liquid to solid ratio was set to 25 ml/g. The extraction yield of PSPI grew gradually as the ultrasonic time increased when the ultrasonic power was at a low level, as shown by the response surface and its related counter plot. The yield of PSPI increased from approximately 75 g/100 g to 80 g/100 g at a high level of ultrasonic time as the ultrasonic power was raised. However, at a low level of ultrasonic time, the yield of PSPI improved from around 71 g/100 g to 75 g/100 g. The results showed that increasing ultrasonic power and ultrasonic time in the experiment range was beneficial to the extraction yield of PSPI.

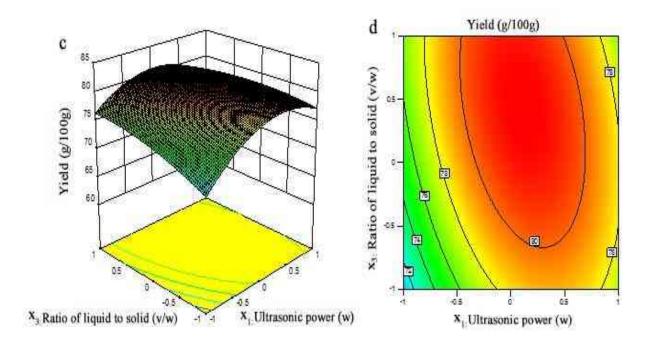


Fig. 3.12 Response surfaces (c) and contour plots (d) showing effects of extraction variables (X<sub>1</sub>, ultrasonic power; X<sub>2</sub>, ultrasonic time; X<sub>3</sub>, ratio of liquid to solid) on the ultrasound-assisted alkaline extraction and acid precipitation (UAAE) yield of pumpkin seed protein isolate (PSPI)

In Fig. 3.12 c, d, the response surface and counter plot that demonstrated the impacts of ultrasonic power  $(X_1)$  and the ratio of liquid to solid  $(X_3)$  on the yield of PSPI were displayed while keeping ultrasonic time  $(X_2)$  at a moderate level of 20 minutes. The maximum extraction yield of PSPI was attained at the middle level of ultrasonic power and the ratio of liquid to solid; further increases in ultrasonic power and the ratio of liquid to solid would not result in an increase in the extraction yield of PSPI.

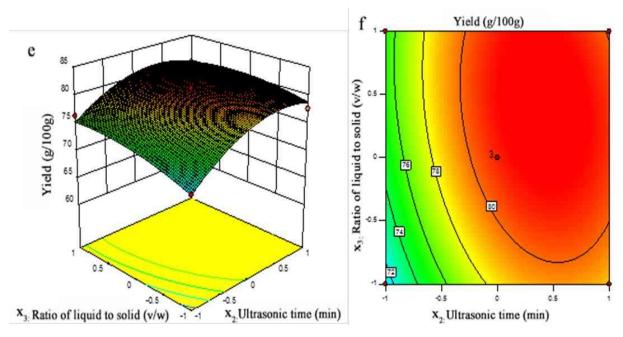


Fig. 3.13 Response surfaces (e) and contour plots (f) showing effects of extraction variables ( $X_1$ , ultrasonic power;  $X_2$ , ultrasonic time;  $X_3$ , ratio of liquid to solid) on the ultrasound-assisted alkaline extraction and acid precipitation (UAAE) yield of pumpkin seed protein isolate (PSPI)

Fig. 3.13 e, fillustrates the impact of ultrasonic time  $(X_2)$  and liquid to solid ratio  $(X_3)$  on the yield of PSPI while preserving ultrasonic power  $(X_1)$  at a moderate level (450 W). As the ratio of liquid to solid increased at a high level of ultrasonic time, the yield of PSPI significantly increased. However, the influence of the liquid to solid ratio on the yield of PSPI was not significant when ultrasonic time was at a low level.

The calculated optimal PSPI extraction settings were ultrasonic power of 456 W, ultrasonic period of 22 min, and ratio of liquid to solid of 27 mL/g. These values were obtained by solving the regression equation and examining the response surface contour plots. PSPI were extracted under ideal UAAE circumstances, and the effectiveness of model was evaluated. The outcome demonstrated that the experimental value of the PSPI yield (80.76 g/100 g) was similar to the projected value (81.86 g/100 g). This indicated a strong fit between the experimental value and the predicted value of regression model. As a result, it is possible to accurately predict the PSPI extraction condition using response

surface modeling.

#### 3.3 Improving the gel properties of PSPI by pH-shifting treatment

#### 3.3.1 Technological scheme for obtaining a semi-finished product

Technological scheme for obtaining protein isolate from pumpkin seed meal shown on Fig. 3.14.

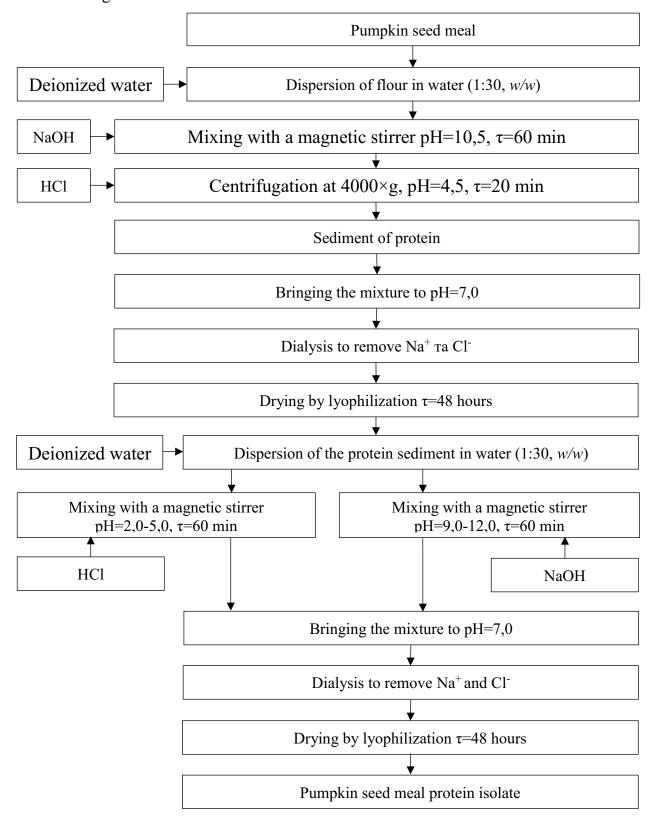


Fig. 3.14 Technological scheme for obtaining protein isolate from pumpkin seed meal

#### 3.3.2 Results of textural analysis of PSPI gel



Fig. 3.15 Pictures of control PSPI gel and pH-shifting treated PSPI gels (PSPI 2, PSPI 4, PSPI 6, PSPI 8, PSPI 10, and PSPI 12)

Under particular circumstances, the definition of gel is molecules in a dispersion system interact to form a network structure. Since proteins are primarily responsible for gelation, they are crucial in the preparation of gelled food. When determining whether food products will be accepted by consumers, texture is an important sensory quality factor [105]. The "two bite tests" method of texture profile analysis (TPA) can mimic the chewing motion of the mouth and provide information into the behavior of the samples. A double compression test is a common technique for identifying the textural characteristics of food products [106]. In the present study, the texture profile analysis was used to analyze the PSPI gels following the pH-shifting treatment using characteristics like hardness, adhesiveness, and cohesiveness [107].

Table 3.5 displayed the definition of these three parameters. Fig. 3.15 displayed images of PSPI gels treated with pH-shifting and control PSPI gels (PSPI 2, PSPI 4, PSPI 6, PSPI 8, PSPI 10, and PSPI 12).

Parameters	Definitions
Hardness	The force required to compress the sample was associated
Tracanoss	with a mechanical textural feature.
	Force was required to remove the stuff that had stuck in the
Adhesiveness	mouth. Between the sticky forces of the sample and the
	probe, effort is required to overcome.
Cohesiveness	Food deformation before breaking is connected with this
Conceiveness	mechanical textural property.

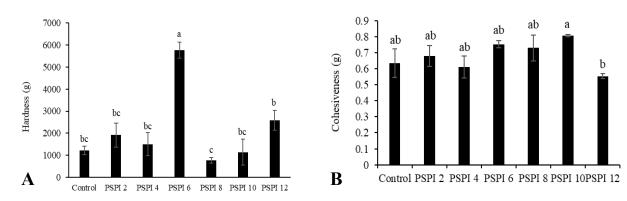


Fig. 3.16 A - Hardness of control PSPI gel and pH-shifting treated PSPI gels (PSPI 2, PSPI 4, PSPI 6, PSPI 8, PSPI 10, and PSPI 12); B - Cohesiveness of control PSPI gel and pH-shifting treated PSPI gels (PSPI 2, PSPI 4, PSPI 6, PSPI 8, PSPI 10, and PSPI 12)

Hardness is defined as the amount of force required to cause deformation in a product at a specific distance. The PSPI gels' hardness was depicted in Fig. 3.16 (A). The hardness of PSPI 2, PSPI 4, PSPI 8, PSPI 10, and PSPI 12 showed no significant difference from that of the control, however the hardness of PSPI 6 improved significantly. This might be because the proteins partially unfolded during the pH-shifting process at pH 6, exposing more active sites like free sulfhydryl groups, which will encourage protein-protein interaction via hydrophobic interactions and disulfide bridge when heated [108].

Cohesiveness is characterized as the ability of the gel to maintain an intact network structure. It is a parameter that relates the behavior of the gel during the initial deformation to how well it withstands a subsequent deformation. The lack of a change in cohesiveness values between control PSPI and PSPI samples after pH-shifting treatments (PSPI 2, PSPI 4, PSPI 6, PSPI 8, PSPI 10, and PSPI 12), as shown in Fig. 3.16 (B), may imply pH-shifting treatment can't increase the cohesiveness of gels.

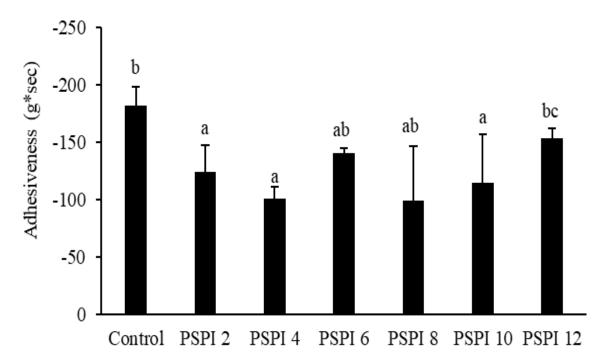


Fig. 3.17 Adhesiveness of control PSPI gel and pH-shifting treated PSPI gels (PSPI 2, PSPI 4, PSPI 6, PSPI 8, PSPI 10, and PSPI 12)

The attractive force that must be overcome between the surface of the gel and the surface of the probe corresponds to the adhesiveness, which is used to measure the textural characteristics of gels. The adhesiveness of PSPI 2, PSPI 4, and PSPI 10 decreased significantly when compared to control. The lack of a significant difference in the adhesiveness of PSPI 6, PSPI 8, and PSPI 12 may suggest that pH-shifting treatment has no effect on the adhesiveness of PSPI gels.

#### 3.3.3 Results of water-absorbing ability of PSPI gel

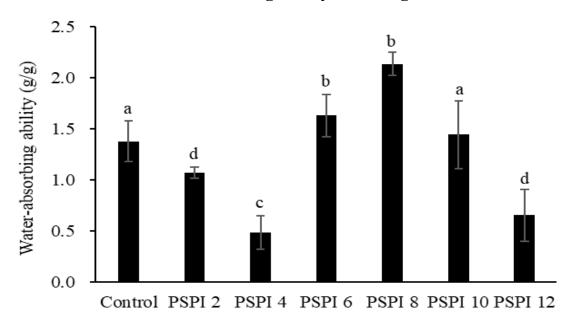


Fig. 3.18 Water-absorbing ability of control PSPI gel and pH-shifting treated PSPI gels (PSPI 2, PSPI 4, PSPI 6, PSPI 8, PSPI 10, and PSPI 12)

A key indicator of a gel is its capacity to absorb water. Oilseed proteins that are good at absorbing water is more suitable to be ingredients for meat products like meatballs, sausages, and patties. The water-absorbing ability of PSPI 2, PSPI 4, and PSPI 12 considerably decreased when compared to that of control PSPI, which may indicate that these gels didn't have a very compact structure, which led to less trapped water and a reduced water-absorbing ability [58].

Additionally, PSPI 6 and PSPI 8 had higher water-absorbing ability than that of control, indicating that these two PSPI had a better ability to bind water in their gels. According to certain theories, the proper pH-shifting treatment might reveal more protein active sites and regions, which results in a harder gel with a more compact structure and trapped water [58]. PSPI 8 has a water-absorbing capacity of 2.137 g/g. Compared to the water-absorbing ability of dry egg white (1.68 g/g), the higher water-absorbing ability of PSPI 6 and PSPI 8 suggest that they have potential uses in food products [109].

#### 3.3.4 Results of water state of PSPI gels evaluated by LF-NMR

In order to have a better understanding of the water state of PSPI gels, the water dynamics of PSPI gels were analyzed by LF-NMR. The T<sub>2</sub> relaxation time distributions and peak area fractions of the three primary types of water were

presented in Table 3.6 and Fig. 3.19. There are three peaks in PSPI gels, that is  $T_{2b}$ ,  $T_{21}$ , and  $T_{22}$  (Fig. 3.19).

Table 3.6 Distributions of  $T_2$  peak area fractions of control PSPI gel and pH-shifting treated PSPI gels (PSPI 2, PSPI 4, PSPI 6, PSPI 8, PSPI 10, and PSPI 12)

T <sub>2</sub> peak area fractions	PSPI 2	PSPI 4	PSPI 6	Control	PSPI 8	PSPI 10	PSPI 12
T (0/)	2.06±0.	0.81±0.	1.46±0.0	2.07±0.0	2.69±0.	3.03±0.	5.13±0.
T <sub>2b</sub> (%)	28	28	3	58	12	046	28
T (0/)	87.34±1	96.18±3	97.73±0.	96.92±0.	89.93±0	95.60±1	79.90±1
T <sub>21</sub> (%)	.70	.23	096	060	.85	.16	.47
T (0/)	10.57±1	2.06±3.	0.81±0.1	1.00±0.0	7.38±0.	1.40±1.	14.98±1
T <sub>22</sub> (%)	.89	17	0	04	73	15	.70

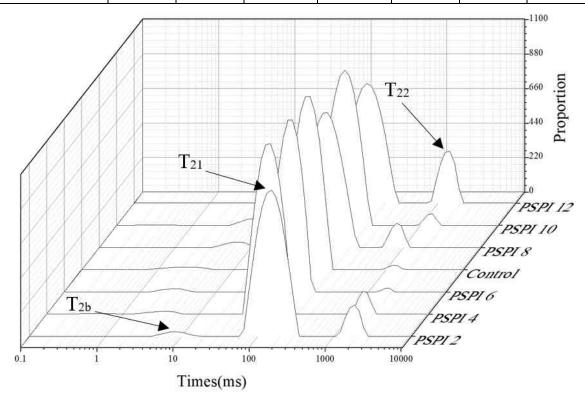


Fig. 3.19 Distributions of T<sub>2</sub> relaxation times of control PSPI gel and pH-shifting treated PSPI gels (PSPI 2, PSPI 4, PSPI 6, PSPI 8, PSPI 10, and PSPI 12)

 $T_{2b}$  represents bound water which has a strong binding ability to the macromolecules like proteins in PSPI gels.  $T_{21}$  represents the weak bound water which showed week binding interaction with the macromolecules.  $T_{22}$ , which is

grouped into immobilized water, represents the immobilized water which are trapped at the inner part of the PSPI gels. Both  $T_{21}$  and  $T_{22}$  can be classified to immobilized water [110].

The results showed that the bound water (T<sub>2b</sub>) of PSPI 4, and PSPI 6 were decreased, while the bound water (T<sub>2b</sub>) of PSPI 8, PSPI 10, and PSPI 12 were increased. Compared to control, only the immobilized water (T<sub>21</sub>) of PSPI 6 showed increased value, while that of PSPI 2, PSPI 4, PSPI 8, PSPI 10, and PSPI 12 showed decreased value. The immobilized water (T<sub>22</sub>) of PSPI 6 showed decreased value while that of PSPI 2, PSPI 4, PSPI 8, PSPI 10, and PSPI 12 showed increased value.

As shown in Fig. 3.19, compared with that of control PSPI gel, peak area of the bound water ( $T_{2b}$ ) of the PSPI 6 gel decreased, which was probably because that part of the polar groups of protein ionized under pH 6, then part of the hydrogen bonding could not be formed between these ionized groups of PSPI 6 and water [110]. The increased peak area of immobilized water ( $T_{21}$ ) of PSPI 6 might suggest that PSPI 6 gel have more strong binding interaction with the macromolecules. This characteristic is benefit for adding PSPI into the sausage.

#### 3.4 Improving the solubility of PSPI by pH-shifting treatment

#### 3.4.1 Results of determining the solubility of PSPI

Protein solubility is a crucial functional characteristic that affects a protein's capacity to form gels and emulsions. As presented in Fig. 3. 20, the present work evaluated the solubility of control PSPI and pH-shifting treated materials (PSPI 2, PSPI 4, PSPI 6, PSPI 8, PSPI 10, and PSPI 12). The solubility of control PSPI was 45.6 %. When compared to that of the control, the solubility of PSPI 2, PSPI 4, PSPI 10, and PSPI 12 significantly decreased to 13.7, 10.8, 41.8, and 13.4 %, respectively. This might be because several polar groups (such as carboxyl and amide groups) were buried after pH-shifting treatment at pH 2, pH 4, pH 10, and pH 12, which reduced their capacity to interact with water [111]. It has been shown that the solubility of peanut protein isolates also had a lower value when treated at pH 2 and pH 12 [58].

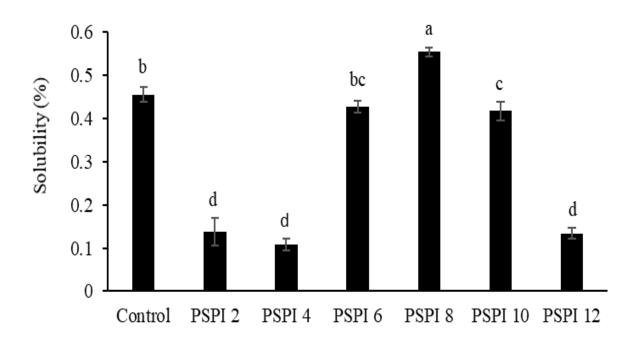


Fig. 3.20 Solubility of control pumpkin seed protein isolate (control PSPI) and pH-shifting treated pumpkin seed protein isolate samples (PSPI 2, PSPI 4, PSPI 6, PSPI 8, PSPI 10, and PSPI 12)

Additionally, there was no variation in the solubility of PSPI 6 (42.7 %) in this investigation, but the solubility of PSPI 8 (55.5 %) improved significantly. This might be the result of the van der Waals and hydrophobic contacts being broken during the unfolding and refolding of protein molecules [112]. Moreover, proteins may be in an unfolded state following alkaline or acidic treatment, sidechain connections became weaken and conformation structure became flexible, resulting an improvement in protein-water interactions and solubility [56].

## 3.4.2 Results of determining the average particle size of soluble protein in PSPI

Figure 3.21 displays the average soluble protein particle size in control PSPI and pH-shifting treated PSPI samples (PSPI 2, PSPI 4, PSPI 6, PSPI 8, PSPI 10, and PSPI 12).

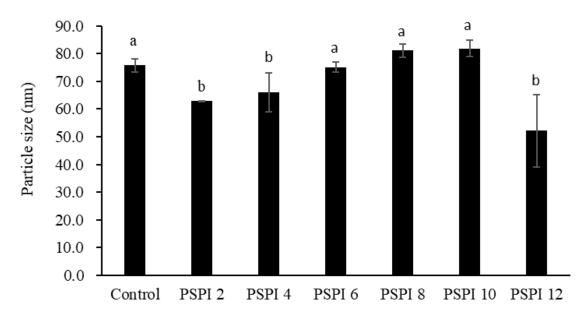


Fig. 3.21 Average particle size of soluble protein in control pumpkin seed protein isolate (control PSPI) and pH-shifting treated pumpkin seed protein isolate samples (PSPI 2, PSPI 4, PSPI 6, PSPI 8, PSPI 10, and PSPI 12)

Particle size is vital for the protein solubility and emulsifying capacity. About the control PSPI, the average soluble protein particle size was 75.79 nm. While this parameter of soluble protein in PSPI 6 (75.12 nm), PSPI 8 (81.15 nm), and PSPI 10 (81.88 nm) showed no significant difference after pH-shifting treatment, while the average particle size of soluble protein in PSPI 2 (62.81 nm), PSPI 4 (65.92 nm), and PSPI 12 (62.17 nm) decreased significantly. The improvement of protein's emulsifying characteristics has been suggested to be facilitated by the reduction of protein particle size [58].

## 3.4.3 Results of determining the zeta potential of soluble protein in pumpkin seed protein isolate

Figure 3.22 displays the soluble protein zeta potential in control PSPI and pH-shifting treated PSPI samples (PSPI 2, PSPI 4, PSPI 6, PSPI 8, PSPI 10, and PSPI 12).

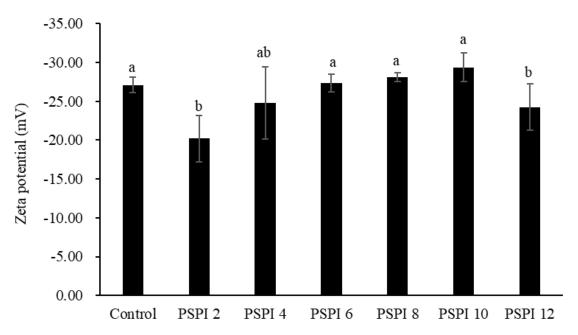


Fig. 3.22 Zeta potential of soluble protein in control pumpkin seed protein isolate (control PSPI) and pH-shifting treated pumpkin seed protein isolate samples (PSPI 2, PSPI 4, PSPI 6, PSPI 8, PSPI 10, and PSPI 12)

The net charge on a protein surface is reflected in the zeta potential. Strong electrostatic repulsion between protein molecules is indicated by a large absolute value of zeta potential, which helps to reduce protein aggregation [113].. Zeta potential of soluble proteins in PSPI 4 (-24.78), PSPI 6 (-27.35), PSPI 8 (-28.10), and PSPI 10 (-29.37) showed no significant difference from control PSPI (-27.10). But the zeta potential of soluble protein in PSPI 2 (-20.20) and PSPI 12 (-24.25) reduced significantly, which may be due to the pH-shifting treatment having an impact on the equilibrium between positively and negatively charged groups [114].

## 3.4.4 Results of determining abundant change of the soluble protein bands of pumpkin seed protein isolate

The insoluble protein in pumpkin seed protein isolate (PSPI) was removed by centrifugation prior to electrophoretic analysis. The number of protein bands was displayed on Fig. 3.23. The protein content of the bands is shown by the color intensity. The darker the color, the more abundant the protein is. In SDS-PAGE, the protein markers, which are displayed in the first lane of Fig. 3.23 below,

showed the molecular weight (MW) of the protein bands.

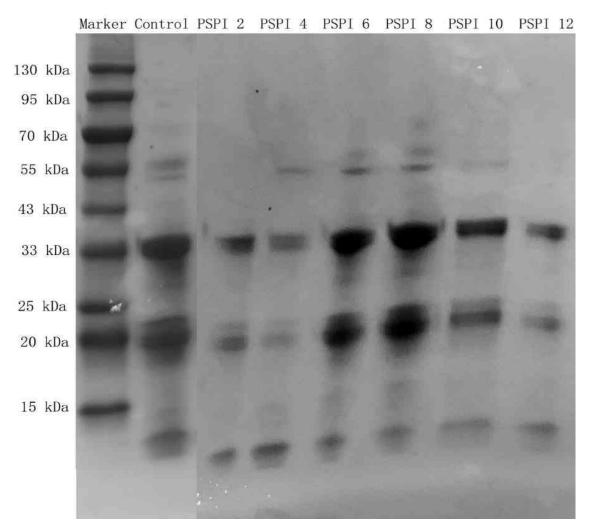


Fig. 3.23 Electrophoretic analysis of soluble protein in control pumpkin seed protein isolate and pH-shifting treated pumpkin seed protein isolate samples (PSPI 2, PSPI 4, PSPI 6, PSPI 8, PSPI 10, and PSPI 12)

The electrophoresis method known as sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gel electrophoresis (SDS-PAGE) is frequently used to separate proteins and oligonucleotides. The main distribution where the molecular weight of the protein bands of the control PSPI located were about 55, 33, 25, 20, and 15 kDa. According to the solubility analysis in Fig. 3.20, the abundance of the protein bands of PSPI 2, PSPI 4, PSPI 10, and PSPI 12 clearly decreased when compared to that of control, whereas the abundance of the protein bands of PSPI 8 appeared to be improved. The result showed that pH-shifting treatment improves the solubility of protein bands with molecular weights of approximately 33 and 25 kDa.

## 3.5 Improving the emulsifying properties of PSPI by pH-shifting treatment

#### 3.5.1 Thermal properties of PSPI

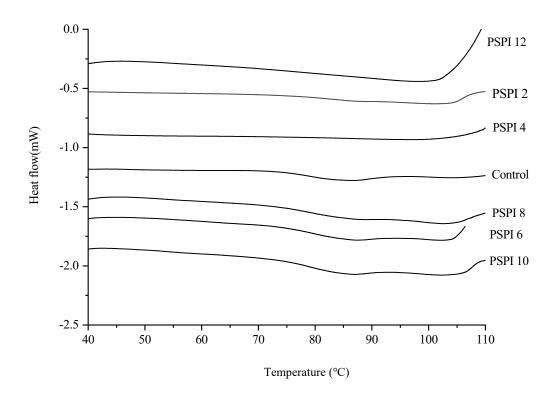


Fig. 3.24 DSC thermograms of control PSPI and pH-shifting treated PSPI samples (PSPI 2, PSPI 4, PSPI 6, PSPI 8, PSPI 10 and PSPI 12)

Differential scanning calorimetry (DSC) is a classical method to investigate the thermal properties of starch and proteins. The DSC curve showed the thermal characteristics of proteins. Under regulated heating rate conditions, the area under the endothermic peak is used to monitor the transformed proportion, which represents the enthalpy change ( $\Delta H$ ), while the endothermic denaturation peak ( $T_p$ ) reflects the thermal stability of samples [78]. In order to determine the impact of pH-shifting on protein stability, DSC analysis was carried out on control PSPI and treated PSPI samples (PSPI 2, PSPI 4, PSPI 6, PSPI 8, PSPI 10, and PSPI 12). These samples' enthalpy change ( $\Delta H$ ) and endothermic denaturation peak ( $T_p$ ) were calculated.

Treatment	P	SPI
Heatment	T <sub>p</sub> (°C)	△H (J/g)
	Peak 1	
Control	87.67±0.95 a	1.66±0.023 bc
PSPI 2	87.78±0.15 a	0.13±0.12 c
PSPI 6	87.81±1.01 a	2.87±1.62 b
PSPI 8	87.87±0.21 a	0.37±0.22 c
PSPI 10	87.33±0.32 a	14.44±1.69 a
	Peak 2	
PSPI 4	97.01±2.88 b	3.79±0.78 b
PSPI 8	98.09±1.12 b	0.06±0.032 a
	Peak 3	
Control	104.11±0.56 c	0.37±0.18 a
PSPI 2	102.47±0.83 с	0.61±0.028 a
3.T	1.1.1.00	1

Note: Values with different letters in same column are significantly different (p < 0.05).

As shown in Fig. 3.24 and Table 3.7, control PSPI, PSPI 2, PSPI 6, PSPI 8, and PSPI 10 displayed endothermic denaturation peaks at 87.67, 87.78, 87.81, 87.87, and 87.33 °C, respectively, with no significant difference. There was no significant difference in the endothermic denaturation peaks of the control PSPI (104.11 °C) and PSPI 2 (102.47 °C), respectively. Additionally, there was no significant difference between the endothermic denaturation peaks of PSPI 4 (97.01 °C) and PSPI 8 (98.09 °C).

12S globulin and 2S albumin are the two main protein components of pumpkin seed protein [97]. Together, these two fractions account for 59 % of total crude protein content of pumpkin seed. The control PSPI displayed two distinct

Table 3.7

endothermic at 87.67 and 102.47 °C transitions in this investigation, it's possible that globulin and albumin in PSPI were responsible for these two endothermic changes. According to the reports, moisture content, heating rate, NaCl concentration, and pH-shifting treatment have an impact on the endothermic transition temperatures of soybean proteins [78; 115; 116]. The endothermic transitions of PSPI 4 and PSPI 8 were considerably different from those of control PSPI (87.67 and 102.47 °C), indicating that a pH-shifting treatment at a particular pH value might influence PSPI's transition temperatures.

The PSPI 2, PSPI 6, and PSPI 8 showed no significant enthalpy change at the peak temperature of around 87 °C, however PSPI 10 showed an enhanced enthalpy change in comparison to that of control, indicating a stabilizing impact of pH-shifting treatment at pH 10. Because the degeneration enthalpy can show the total energy required to break the intramolecular force/bond, the interaction between PSPI's hydrophobic groups and hydrogen bonds may become a more important stabilizing element under pH-shifting treatment at a certain pH [115]. In addition, PSPI 4 demonstrated a lower enthalpy change than PSPI 8 at the peak temperature around 97 °C to 98 °C. PSPI 2 demonstrated no significant value of enthalpy change at the peak temperatures of 102 °C and 104 °C.

Disulfide bonds and free sulfhydryl groups are significant functional groups that contribute significantly to the functional properties of proteins. Disulfide bonds are commonly used in cross-linking mercantile proteins, which can shield them from severe environmental damage and be used in food production processes [117]. Fig. 3.25 displays the amounts of free sulfhydryl groups and disulfide bonds in the control and pH-shifting treated PSPI samples (PSPI 2, PSPI 4, PSPI 6, PSPI 8, PSPI 10, and PSPI 12). The free sulfhydryl group content of the control PSPI was 3.93 µmol/g, whereas this indicator was significantly influenced in all pH-shifting treated samples (PSPI 2, PSPI 4, PSPI 6, PSPI 8, PSPI 10, and PSPI 12), which might be a result of protein unfolding process during pH-shifting treatment.

## 3.5.2 Disulfide bond contents and free sulfhydryl group contents of PSPI

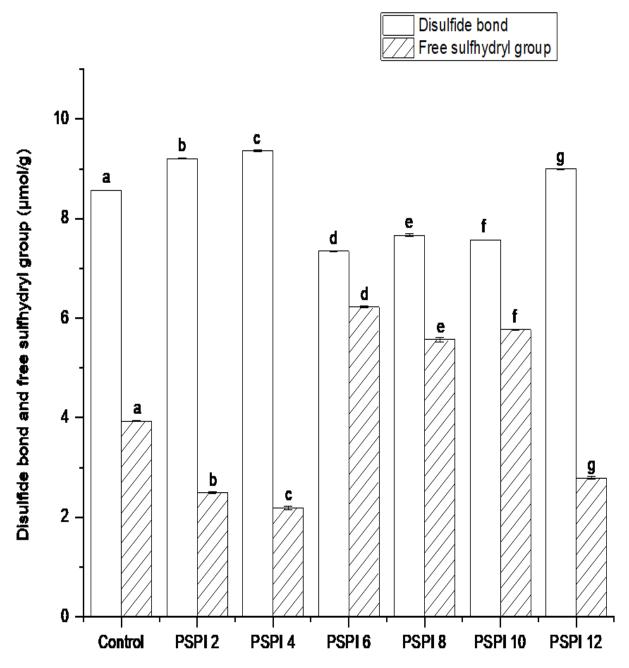


Fig. 3.25 Disulfide bond contents and free sulfhydryl group contents of control PSPI and pH-shifting treated PSPI samples (PSPI 2, PSPI 4, PSPI 6, PSPI 8, PSPI 10, and PSPI 12)

Moreover, the sulfhydryl group played a role in the development of protein secondary and tertiary structures; as a result, their modification may indicate certain degree of protein denaturation [118]. In this investigation, the control PSPI had free sulfhydryl groups and disulfide bond content of 3.93 and 8.57 µmol/g,

respectively. The free sulfhydryl group contents of pH-shifting treated samples (PSPI 6, PSPI 8, and PSPI 10) increased by 58.21, 41.68, and 46.78%, respectively, possibly because the pH-shifting treatment exposed more sulfhydryl groups outside the protein during the protein unfolding process, which was consistent with the reduced disulfide bond contents of PSPI 6, PSPI 8, and PSPI 10.

The disulfide bond contents of PSPI 2, PSPI 4, and PSPI 12 significantly improved by 7.46, 9.28, and 5.01 %, respectively, while the free sulfhydryl group contents reduced by 36.69, 44.39, and 29.11 %, suggesting that the increased disulfide bond contents may be caused by SH oxidation into disulfide bonds or SH/S-S interchange reactions that contribute to disulfide bonds [59]. In a prior study, it was found that pH-shifting treatment either individually or in combination with ultrasonication, the EAI and ESI of soybean protein isolate exhibited a positive connection with the amount of disulfide bonds [119]. It was also discovered that PSPI samples (PSPI 2, PSPI 4, and PSPI 12) with high EAI and ESI (Fig. 3.31) contained more disulfide bond contents and low free sulfhydryl group contents when compared to those of the control.

Protein solubility, emulsifying ability, and gel characteristics are all connected with surface hydrophobicity, which is defined by the amount of hydrophobic amino acid residues [120]. Fig. 3.26 demonstrates that the control PSPI (21460.71) and PSPI 6 (23066.90) had no significant difference in surface hydrophobicity. Moreover, the surface hydrophobicity (32831.03) of PSPI 8 improved significantly, indicating that more hydrophobic groups were exposed on its surface. The surface hydrophobicity of PSPI 2, PSPI 4, PSPI 10, and PSPI 12 reduced by 11.74, 86.22, 11.19, and 53.52 %, respectively.

#### 3.5.3 Surface hydrophobicity of PSPI

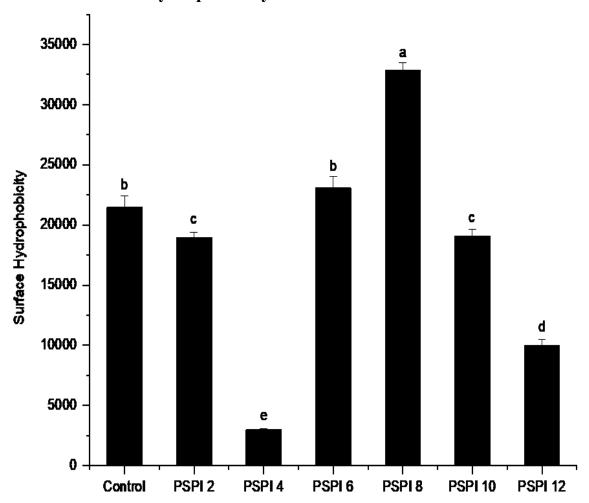


Fig. 3.26 Surface hydrophobicity of control PSPI and pH-shifting treated PSPI samples (PSPI 2, PSPI 4, PSPI 6, PSPI 8, PSPI 10, and PSPI 12)

When the pH was close to the isoelectric point (pH 4.5), it showed the lowest value (2957.80), which may have been due to hydrophobic groups being buried inside the protein as a result of protein aggregation close to the isoelectric point. Although Zhang et al. demonstrated a strong correlation between surface hydrophobicity and the emulsifying abilities of a peanut protein isolate treated by ultrasonic pretreatment [121]. Paraman et al. demonstrated that hydrophobicity was not a reliable parameter of protein solubility and emulsifying abilities of enzyme-modified rice endosperm protein [122]. Surface hydrophobicity and emulsifying abilities were not correlated in this study.

#### 3.5.4 Fluorescence intensity of PSPI

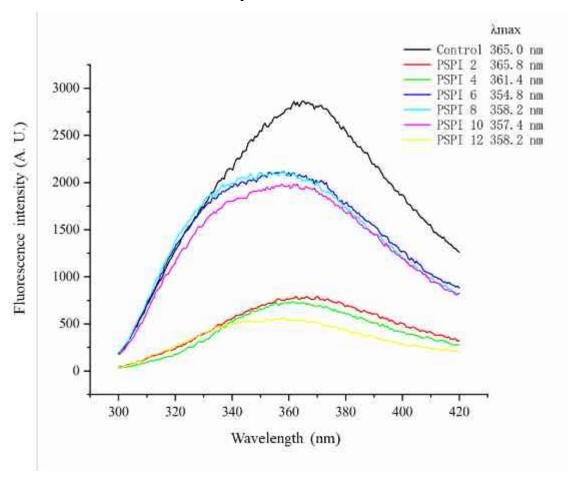


Fig. 3.27 The fluorescence intensity of control PSPI and pH-shifting treated PSPI samples (PSPI 2, PSPI 4, PSPI 6, PSPI 8, PSPI 10 and PSPI 12)

Due to the presence of tryptophan and tyrosine residues in proteins, intrinsic fluorescence spectroscopy of proteins is frequently used to detect secondary structural modifications [112]. The control PSPI showed the maximum emission wavelength ( $\lambda_{max}$ ) of 365.0 nm, which is depicted in Fig. 3.27. which suggest that an increase in the nonpolarity of the microenvironment around the tryptophan residue. The  $\lambda_{max}$  of PSPI 4, PSPI 6, PSPI 8, PSPI 10, and PSPI 12 exhibited declined (blue shift) values (361.4, 354.8, 358.2, 357.4 and 358.2 nm, respectively). Only  $\lambda_{max}$  of PSPI 2 improved significantly (red shift), possibly as a result of the change in tertiary conformation and the exposure of tryptophan and tyrosine residues to the polar microenvironment [123].

The control PSPI had a fluorescence intensity of 2879. The pH-shifting treated PSPI samples (PSPI 2, PSPI 4, PSPI 6, PSPI 8, PSPI 10, and PSPI 12)

showed a reduction in fluorescence intensities by 72.41, 74.31, 26.50, 26.09, 31.05, and 80.37%, respectively. This is in line with research on peanut protein isolate, which revealed reduced fluorescence intensities following pH-shifting treatment at pH 2, 4, 10, and 12 [58].

#### 3.5.5 Particle size of PSPI

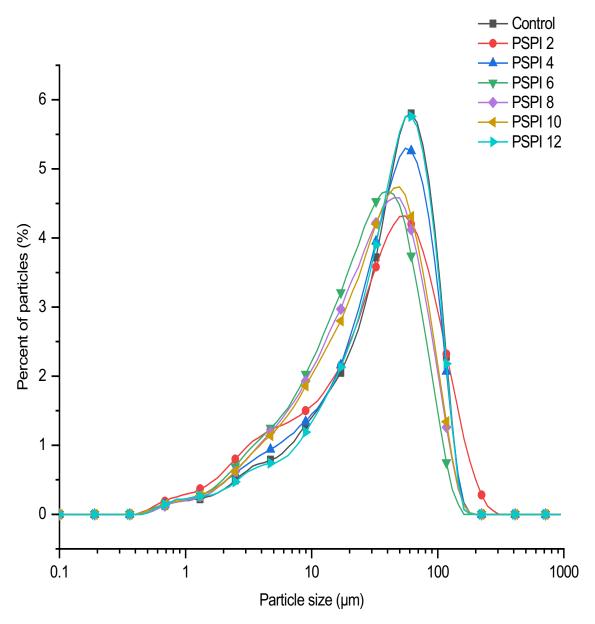


Fig. 3.28 Particle size distributions of control PSPI and pH-shifting treated PSPI samples (PSPI 2, PSPI 4, PSPI 6, PSPI 8, PSPI 10, and PSPI 12)

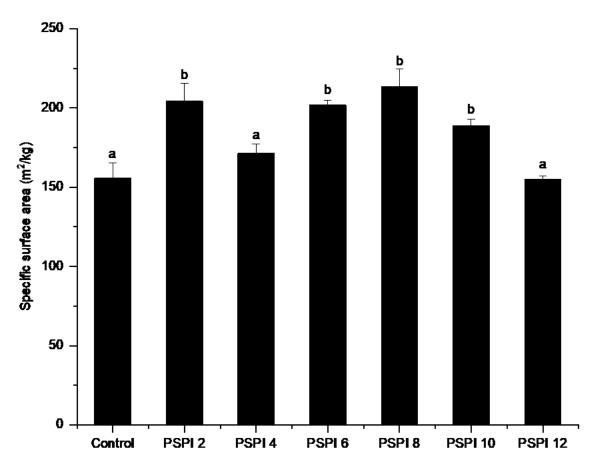


Fig. 3.29 Specific surface areas of control PSPI and pH-shifting treated PSPI samples (PSPI 2, PSPI 4, PSPI 6, PSPI 8, PSPI 10, and PSPI 12)

One of the particle's most crucial physical features is its size. Fig. 3.28 and 3.29, respectively, depict the effects of pH-shifting treatment on the particle size distributions and particle surface areas of PSPI samples. The size of the powder particles is determined by the specific surface area; the smaller the specific surface area, the larger the powder particles [124; 125]. In a prior investigation, it was discovered that the pH-shifting treatment at pH 2, 4, and 12 significantly could increase the average particle sizes of peanut protein isolate [58]. As compared to that of the control (155.60), the specific surface areas of PSPI 2, PSPI 6, PSPI 8, and PSPI 10 were increased by 31.15, 29.67, 36.98, and 21.25 %, respectively, suggesting they have smaller particle sizes.

The pH-shifting treatment at pH 4 and 12 did not significantly affect the particle sizes of the PSPI samples, as shown by the specific surface areas of PSPI 4 (171.17) and PSPI 12 (154.60), respectively. The emulsifying abilities of PSPI 6, PSPI 8, and PSPI 10 were not changed from those of the control PSPI, while

the emulsifying abilities of PSPI 2, PSPI 4, and PSPI 12 exhibited higher values (Fig. 3.31). The change patterns of the emulsifying properties and powder particle sizes of the PSPI samples indicated that the emulsifying properties of PSPI had no direct interaction with the powder particle sizes.

#### 3.5.6 SEM photographs of PSPI

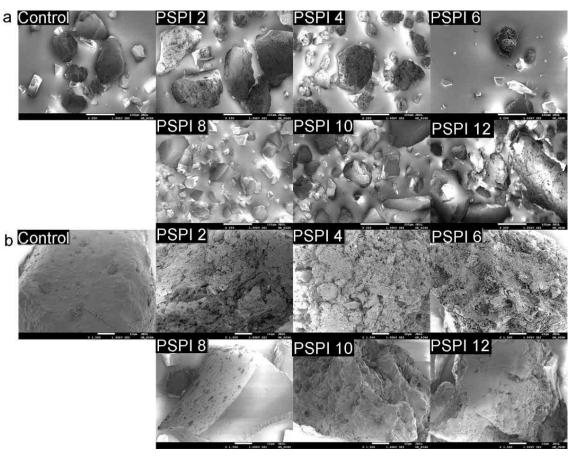


Fig. 3.30 SEM photographs of control PSPI and pH-shifting treated PSPI at 250-fold magnification (a) and 1500-fold magnification (b)

The functional characteristics of a protein are determined by its microstructure, which represents the aggregation of its components [126]. To further assess the possibility of protein aggregation caused by the pH-shifting process, the surface morphologies of control and treated PSPI samples were observed using SEM plots at 250-fold and 1500-fold magnifications (Fig. 3.30). The particle sizes of control, PSPI 2, PSPI 4, and PSPI 12 displayed larger and more irregular structures in comparison to those of PSPI 6, PSPI 8, and PSPI 10, according to the magnified SEM images at 250-fold magnification (Fig. 3.30 a).

With the exception of PSPI 2, this result was essentially in line with the particle size analysis performed by the BT-2001 Laser particle size analyzer (Figs.

3.28 and 3.29). The PSPI 2, PSPI 4, and PSPI 6 powders had relatively rough surfaces compared to control PSPI, PSPI 8, PSPI 10, and PSPI 12, according to the magnified SEM images at 1500-fold magnification (Fig. 3.30 b). These findings further demonstrated that there was no positive or negative relationship between changes in PSPI sample particle sizes and changes of their emulsifying abilities.

However, as showed in Fig. 3.21, PSPI 2, PSPI 4, and PSPI 12 had smaller average soluble protein particle sizes than that of control PSPI, but the average soluble protein particle sizes of PSPI 6, PSPI 8, and PSPI 10 did not change from that of control PSPI. This finding revealed that the smaller particle size of soluble protein in PSPI samples may have contributed to the higher value of their emulsifying activities. Additionally, after pH-shifting treatment at pH 2 and 12, the zeta potential of soluble protein in PSPI 2 and PSPI 12 reduced significantly (Fig. 3.22), indicating a decreased electrostatic repulsion between protein molecules and leading to an increase in protein aggregation.

#### 3.5.7 Emulsifying ability and emulsifying stability of PSPI

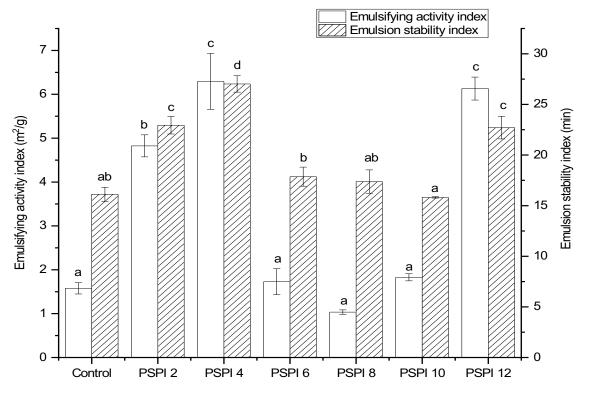


Fig. 3.31 Emulsifying properties of control PSPI and pH-shifting treated PSPI samples (PSPI 2, PSPI 4, PSPI 6, PSPI 8, PSPI 10, PSPI 12)

Emulsification is a crucial functional character to maintain the emulsion

stability of emulsion-based food items [127]. EAI reflects a protein's capacity to promote emulsion formation and stabilization, while ESI reflects a protein's capacity to offer protection over time against structural changes (such as coalescence, emulsification, flocculation, or precipitation) [128]. The EAI and ESI of the control PSPI in the current investigation were 1.58 m²/g and 16.12 min, respectively. After pH-shifting treatment, the EAI of PSPI 2, PSPI 4, and PSPI 12 rose by 205.84, 298.98, and 288.69%, respectively, while the ESI of these three samples rose by 42.32, 67.58, and 40.87%, respectively.

However, there was no significant difference for the EAI and ESI of PSPI 6, PSPI 8, and PSPI 10, as compared to the control PSPI. This is in line with research on soybean protein isolate, which demonstrated that more surface-active and more capable of stabilizing emulsion droplets of soybean protein isolate were formed than that of control after pH-shifting treatment at extremely low pH (1.5) or high pH (12.0) [56]. Extreme pH-shifting treatment has been shown to enhance the emulsifying capacity of egg white protein, and the emulsifying capacity of egg white protein treated at pH 13 showed the highest stability of oxidation, heat, and salt [129].

# 3.5.8. Microbiological and toxicological indicators of pumpkin seed meal protein isolate

Since protein isolates from pumpkin seed meal are products with a long shelf life (up to 3 years), one of the most important factors affecting their quality is the ability to maintain their microbiological and toxicological characteristics during the entire storage period.

Protein isolates must meet the requirements established in the technical conditions and be produced in accordance with the requirements of the technological instructions in compliance with the sanitary rules and norms approved at the enterprise in the established order. Therefore, the study of the microbiological state of the protein isolate from pumpkin seed meal is important.

To conduct the experiment, samples of protein isolate from pumpkin seed meal were prepared according to the developed technological scheme.

The concentration of toxic elements in the protein isolate from pumpkin seed meal during the three-month storage period remained at the same level as before the beginning of storage, which is indicated in Table 3.8.

Food safety indicators (microbiological indicators) of protein isolate from pumpkin seed meal are shown in Table 3.9.

Table 3.8

The content of toxic elements and mycotoxins in protein isolate from pumpkin seed meal

Name of toxic elements	Limit values	Storage period: 3 months						
Toxi	Toxic elements, mg/kg							
mercury	0,03	0,01						
arsenic	1,0	0,2						
copper	30,0	10,0						
lead	1,0	0,1						
cadmium	0,1	0,02						
Mycotoxins, mg/kg								
aflatoxin B <sub>1</sub>	0,005	0,001						
zearalenone	1,0	0,1						

Table 3.9 Microbiological indicators of protein isolate from pumpkin seed meal

Name of indicators	Limit values	Storage period:  3 months	
1	2	3	
The number of mesophilic aerobic and facultative anaerobic microorganisms,	5×10 <sup>4</sup>	1×10 <sup>3</sup>	
CFU in 1 g			
Bacteria of the group of coliforms (coliforms) in 0.1 g	Not allowed	Not found	

continuation of Table 3.9

1	2	3
Pathogenic microorganisms, in		
particular bacteria of the genus	Not allowed	Not found
Salmonella, in 25 g		
Moldy mushrooms, CFU in 1 g	1×10 <sup>2</sup>	$0,1\times10^{2}$
Yeast, CFU in 1 g	1×10 <sup>2</sup>	$0,1\times10^{2}$

The study of microbiological parameters of the protein isolate from pumpkin seed meal during storage showed that bacteria of the group of coliforms, as well as pathogenic microflora in the protein isolate from pumpkin seed meal were not identified. The number of mesophilic aerobic and facultative anaerobic microorganisms in the protein isolate from pumpkin seed meal slightly increased over time during storage, but according to the level of this indicator, after 3 months of storage, the protein isolate met the sanitary-epidemiological and hygienic requirements.

Thus, safety indicators were studied during 3 months of storage. Based on the obtained data, it was established that protein isolate from pumpkin seed meal can be stored at a temperature of 18°C for 3 months. Insignificant values of microbiological and toxicological indicators confirm the effectiveness of storage at a temperature of 18°C and create prerequisites for confirming the maximum storage terms of protein isolate from pumpkin seed meal.

#### **Conclusions of Section 3**

- 1. Comparing the functional characteristics of PEPI, PSPI, SUPI, and SOPI revealed that PSPI had the largest oil-absorbing capacity and the quickest wetting time, making it a potential food additive. According to research of using the response surface method, the best conditions for extracting PSPI are 456 W of ultrasonic power, 22 minutes of ultrasonic time, and 27 mg/L for the liquid to solid ratio, with a maximum protein yield of 81.86 g/100 g.
- 2. The solubility of PSPI after pH-shifting treatment was determined by indexes of the solubility value, the average particle size and zeta potential, as well

as abundant change of the soluble protein. According to the results, the solubility of PSPI 8 was 21.7 percent higher than that of the control. However, the zeta potential and the average particle size of the soluble protein in PSPI 8 did not differ significantly. According to the SDS-PAGE examination, the enhanced amount of soluble protein bands at 33 kDa and 25 kDa of PSPI 8 were detected. PSPI 8 has the optimal solubility, which is crucial for its use in the food products.

- 3. The indications of water-absorbing capacity, texture analysis, and water state of LF-NMR were used to investigate the gel characteristics of PSPI after pH-shifting treatment. The outcomes demonstrated that PSPI 6 and PSPI 8 significantly enhanced their capacity to absorb water. While the cohesiveness of all pH-shifting treated PSPI samples showed no significant change from control, the hardness of PSPI 6 also exhibited a significantly improved value. According to LF-NMR analysis of the water dynamics of PSPI gels, PSPI 6 had the largest total amounts of bound water (T<sub>2b</sub>) and weakly bound water (T<sub>21</sub>). According to these findings, PSPI 6 has the best gel characteristic.
- 4. The emulsifying capabilities of PSPI after pH-shifting treatment were detected. The thermal property and protein structural changes of PSPI were also carried out to further explore the potential causes of emulsification alterations caused by pH-shifting treatment. According to a differential scanning calorimetry analysis (DSC), all pH-shifting treated PSPI samples, with the exception of PSPI 2, revealed a significantly change in denaturation temperatures and enthalpies. According to the protein structural study, PSPI 2, PSPI 4, and PSPI 12 increased disulfide bond contents by 7.46, 9.28, and 5.01 %, respectively, and the free sulfhydryl group contents of these three samples reduced by 36.69, 44.39, and 29.11%, respectively, showing that the increased disulfide bond contents and decreased free sulfhydryl group contents of PSPI 2, PSPI 4, and PSPI 12 might be related to the improved emulsifying properties. The emulsion stability indicators of of PSPI 2, PSPI 4, and PSPI 12 improved by 42.32, 67.58, and 40.87 %, respectively, whereas the emulsifying activity indicators of these three samples improved by 205.84, 298.98, and 288.69%, respectively. In sum, PSPI 2,

PSPI 4, and PSPI 12 have the best emulsifying properties.

5. According to the results of solubility, gel properties and emulsifying properties of PSPIs treated after pH-shifting treatment, the PSPI 6 was chosen to apply to the technology of pumpkin seed protein isolate sausage based on the solubility, gel characteristics, and emulsifying qualities of PSPIs treated after pH-shifting treatment.

# SECTION 4 TECHNOLOGIES OF BISCUITS WITH THE ADDITION OF PUMPKIN SEED MEAL AND MEAT PRODUCTS WITH THE ADDITION OF PUMPKIN SEED PROTEIN ISOLATE

#### 4.1 The technology of pumpkin seed meal biscuits

The research of biscuits was carried out at Hezhou University in China, Sumy National Agricultural University in Ukraine, the results of experiments are confirmed by relevant research protocols. Research protocols are given in the Addition A. "Protocols of experimental data". Degustation of biscuits with the addition of pumpkin seed meal protein isolate was carried out at Hezhou University in China. Degustation results were recorded in the relevant degustation protocols. Degustation protocols are given in the Addition B. "Degustation certificates".

#### 4.1.1 Basic composition analysis of the pumpkin seed meal

Table 4.1 **Basic composition analysis of the pumpkin seed meal** 

Components	Pumpkin seed meal
Protein (%)	50.91
Fat (%)	11.29
Water (%)	8.44

As can be seen from Table 4.1, the protein, fat, and water content in the pumpkin seed meal are 50.91%, 11.29%, 8.44%, respectively.

# 4.1.2 Results of the effect of the addition ratio of low-gluten wheat powder, pumpkin seed meal powder, and konjac powder on the biscuits' quality

Texture profile analysis (TPA), also referred to as "two bite tests," can mimic the chewing motion of the mouth and provide insight into the behavior of the samples. A twofold compression test is a common technique for identifying the textural characteristics of food products [130]. The analysis of the texture profile was used in this work to determine the hardness parameter. The quality of the biscuits was determined using the organoleptic analysis (Table 4.2).

#### Sensory score table

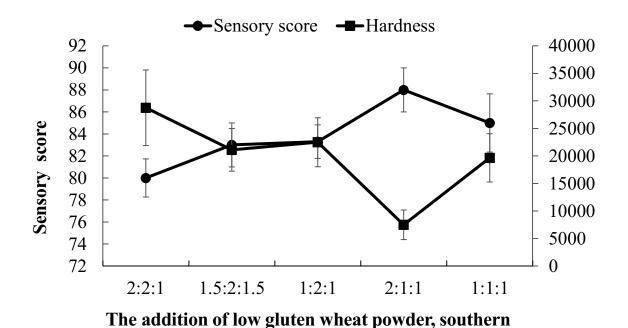
Items	Evaluation standards	Score			
1	2	3			
Shape	Biscuits have a fairly complete form, a clearly appearance,				
	and a consistent thickness. There is no shrinking, distortion,				
Shape	foaming, or concave bottom. The fracture surface is stratified				
	or porous without large holes.				
	The form, the decoration, and the thickness of biscuits are all				
	relatively complete and uniform. The biscuits have no	8~15			
	distortion, foaming, or bottom concavity. The fracture	0.13			
Shape	surface has significant pores and is generally layered.				
Shape	Biscuits lack uniform thickness, clearly appearance and				
	uniform thickness. There is contraction as well as	0~7			
	deformation. There are visible concave bottom parts that are				
	devoid of layers and have larger holes.				
	The color of biscuits is golden yellow or brown yellow.				
	There are no brown or white spots on the surface of the	16~20			
	biscuits, and the color is essentially homogeneous.				
	The color of biscuits is golden yellow or brown yellow.				
Color	There are a few brown or white spots, and the color is	8~15			
	basically homogeneous.				
	The color of biscuits is golden yellow or brown yellow.				
	There are brown or white spots, and the color is not	0~7			
	homogeneous.				
	The aroma of biscuits is strong, with mild pumpkin seed	22~30			
	fragrance, no unpleasantly smell.				
Smell	The aroma of biscuits is not strong with mild pumpkin seed	8~21			
	fragrance, and no offensive odour.				
	The aroma of biscuits have no pumpkin seed fragrance.	0~7			

continuation of Table 4.2

1	2	3
	The sweetness of biscuits is appropriate. The biscuits are	
	crisp. They don't stick to teeth, either. There are no impure	22~30
Flavor	substances exist in biscuits.	
	The sweetness of biscuits is not appropriate. The biscuits are	
	less crisp. They don't stick to teeth, either. There are no	8~21
	impure substances exist in biscuits.	
	Biscuits taste less sweet or overly sweet. The taste is	
Flavor	excessively tough. They stick to teeth easily. There is a few	0~7
	impurity chemicals present.	

In Table 4.2, the features of biscuits were presented. Ten qualified individuals worked as sensory evaluators. The grade of the shape, color, smell, and flavor of each single factor experiment and orthogonal test were examined in accordance with the sensory score table. The experiment received a total sensory score of 100 points. Shape, color, scent, and flavor receive comprise 20, 20, 30, and 30 points, respectively. The greater the overall sensory score, the better the biscuits each experiment produced.

The three primary ingredients (low-gluten wheat flour, pumpkin seed meal powder, and konjac powder) have a significant influence on the biscuits' quality, as can be shown in Fig. 4.1. When low-gluten flour, pumpkin seed meal powder, and konjac powder were added in a ratio of 2:2:1, or low-gluten flour at 40%, pumpkin seed meal powder at 40 %, and konjac powder at 20 %, the sensory score of the product displayed the lowest value among the five experimental levels, and the hardness showed the highest value. The amount of low-gluten powder and pumpkin seed meal powder in the dough was relatively high at this ratio, the gluten network in the dough was dense, and the taste was relatively hard [131].



sunflower seed powder, and konjac powder

Fig. 4.1 The effect of the addition ratio of low-gluten wheat powder, pumpkin seed meal powder, and konjac powder on the biscuits' quality

Comparatively to the addition ratio of 2: 1, the sensory ratings were higher when the addition ratio was 1.5: 2: 1.5 and 1: 2: 1. With addition ratios of 2: 1: 1, 1.5: 2: 1.5, and 1: 2: 1, the mixture had a comparatively high amount of pumpkin seed meal powder. The highest level of the sensory score was attained with an addition ratio of 2: 1: 1. The biscuits' hardness was lowest at this ratio, and their flavor is appropriate and well-balanced. The sensory score was quite low when the formula ratio is 1: 1: 1, namely low-gluten wheat flour of 33.3 %, pumpkin seed meal powder of 33.3 %, and konjac powder of 33.3 %. As a result, orthogonal experiments were conducted using the addition ratios of low-gluten wheat powder, pumpkin seed meal, and konjac powder of 1:2:1, 2:2:1, and 2:1:1.

# 4.1.3 Results of the effect of the addition ratio of plant oil and butter on the biscuits' quality

As shown in Fig. 4.2, the total amount of plant oil and butter was 16%, which remained constant throughout all levels. The sensory score of the biscuit increased as the amount of plant oil reduced from 8 % to 4 %. When plant oil and butter were added in proportions of 4 % and 12 %, the biscuits' hardness and

crispiness increased, the biscuits had a significantly sensory score with loose texture, smooth and bright surface.

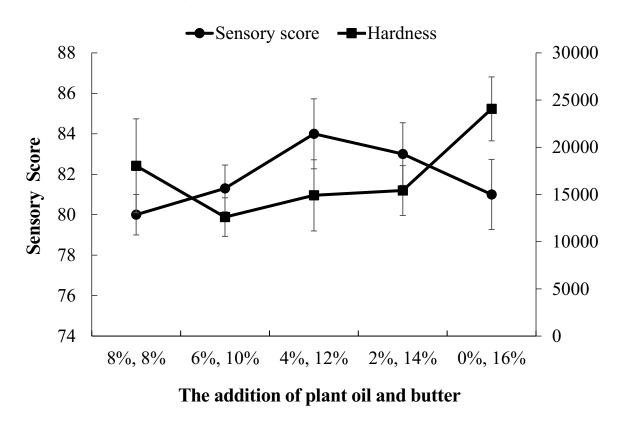


Fig. 4.2 The effect of the addition ratio of plant oil and butter on the biscuits' quality

The sensory score showed reduced value when the amount of plant oil reduced from 4 % to 0 % and the amount of butter increased from 12 % to 16 %. When the butter content exceeded 12 %, the flavor was significantly greasy. The plant oil amounts of 6 %, 4 %, and 2 % (along with butter amounts of 10 %, 12 %, and 14 %) were chosen for orthogonal tests.

# 4.1.4 Results of the effect of the addition of maltitol on the biscuits' quality

The sensory score increased when the amount of maltitol increased from 15 % to 20 %, as presented in Fig. 4.3. The biscuit had a comparatively less sweet flavor when maltitol addition was less than 20 %, the biscuit had relatively less sweet taste, thus the taste showed a little bit bitter and sensory score was relatively low.

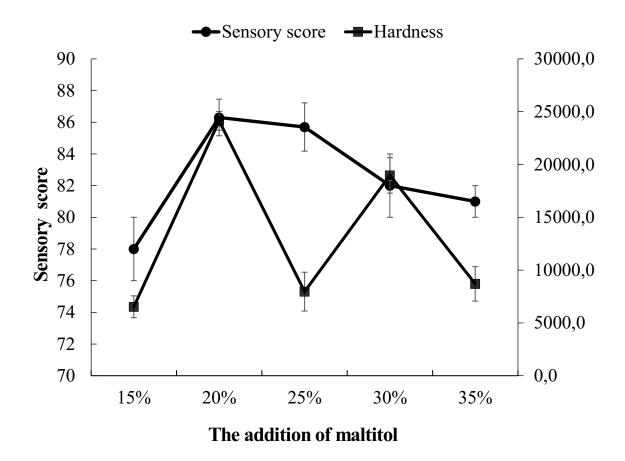


Fig. 4.3 The effect of the addition amount of maltitol on the biscuits' quality

The addition of maltitol would also make the dough tough, which could influence the flavor. The sweetness flavor and the bitter taste blended well together when the addition amount of maltitol was 20 %, of which the sensory score was the highest. When the maltitol content exceeded 20 %, the biscuit was too sweet and greasier.

#### **4.1.5** Results of orthogonal test

The result of the orthogonal test was displayed in Table 4.3. The factor priority of each factor on the biscuits' sensory score was determined. The findings demonstrated that addition ratio of low-gluten wheat powder, pumpkin seed meal, and konjac powder (A) had a greater impact on the sensory score of the biscuits, followed by maltitol (B) as well as plant oil and butter (C).

Table 4.3

Results of orthogonal test

No.	. A Blank B C		1	Hardness/g	Sensory		
110.	11	Diank	Б		,	Trataness/g	score
1	1	1	1	1		18432.49	86.3
2	1	2	2	2		17166.90	84
3	1	3	3	3		10119.40	87.3
4	2	1	2	3		15623.96	84.7
5	2	2	3	1		4925.87	85.3
6	2	3	1	2		12733.80	84
7	3	1	3	2		26294.74	86
8	3	2	1	3		15704.07	87
9	3	3	2	1		12593.94	88
K1	257.6	257	257.3	259	0.6	-	-
K2	24	26.3	256.7	25	4	-	-
K3	261	259.3	258.6	25	9	-	-
R	7	3	1.9	5.6		-	-
Factor Priority					A C B	'	
Optimal combination				$A_3C_1B_3$			

The best formula was  $A_3C_1B_3$ . Based on the formula, the addition ratio of low-gluten wheat powder, pumpkin seed meal, and konjac powder was 2:1:1. The amounts of butter and plant oil were 2 % and 14 %, respectively. Additionally, the amount of maltitol was 20 %. The confirmation experiment revealed that the sensory score for the optima formula was 89.3, demonstrating the reliability of the result. Under this formulation condition, the biscuits have a crunchy flavor and a mild pumpkin seed flavor.

### 4.1.6 Results of the nutritional indicators of pumpkin seed meal biscuits

The contents of protein, fat, ash, total carbohydrate, and water in pumpkin seed meal biscuit were analyzed, which was showed in Table 4.4.

Table 4.4

Nutritional indicators

	Biscuits (with	Biscuits (without	Danisa Butter
Items	addition of PSM,	addition of PSM,	Cookies,
	g/100 g	g/100 g	g/100 g
Protein	20.4	19.5	6.2
Fat	18.0	18.6	24.3
Ash	1.8	1.7	-
Available	40.1	41.9	_
carbohydrate	40.1	71.9	-
Dietary fiber	19.1	18.3	-
Total Carbohydrate	59.2	60.2	66.2
Water	0.6	0.6	-

The results showed that compared to biscuits without the addition of pumpkin seed meal, biscuits with the addition of pumpkin seed meal had higher protein content (20.4 %), lower fat content (18.0 %), and lower carbohydrate content (59.2 %, including dietary fiber about 19.1 % and available carbohydrate about 40.1 %). Additionally, the biscuits added with pumpkin seed meal were healthier than the well-known Danisa Butter Cookies biscuits since they had more protein and less fat. The biscuits had a dietary fiber level higher than 6 g/100 g (solid), which is considered rich in dietary fiber in accordance with the GB 28050-2011 National Standard for Food Safety Prepackaged Food Nutrition Labeling General Rules of China. The 19.1 g/100 g dietary fiber content of the biscuits we obtained is much higher than the 6 g/100 g level.

Table 4.5

Minerals of pumpkin seed meal biscuits

Minerals		
Na (mg/100g)	320±4.69	
P (mg/100g)	97±2.18	
Ca (mg/100g)	356±6.91	
Mg (mg/100g)	27±1.14	
K (mg/100g)	152±1.63	
Fe (mg/100g)	0.9±0.17	
Zn (mg/100g)	0.82±0.11	
Mg (mg/100g)	0.58±0.28	
Cu (mg/100g)	0.026±0.0042	

The minerals needed by the human body are the inorganic substances in the composition of the human body (such as bone, teeth, hair, muscle, blood, etc.). They are the elements that regulate the physiological functions (pH and osmotic pressure of body fluids). The minerals include microminerals and trace elements. The microminerals of Na, P, Ca, Mg, as well as K and their contents detected in in pumpkin seed meal biscuits were 320, 97, 356, 27, and 152 mg/100 g respectively. The trace elements of Fe, Zn, Mn as well as Cu, and their contents in biscuits were 0.9, 0.82, 0.58 and 0.026 mg/100 g, respectively, which suggested that the pumpkin seed meal biscuits can provide the body with certain mineral elements.

# 4.1.7 The GI value and digestive property of pumpkin seed meal biscuits

The GI value of food can be utilized as an efficient indication of food triggering a human postprandial blood glucose response because it can more closely reflect the physiological state of human blood glucose changes after food intake. The postprandial blood sugar was measured using a portable glucose meter.

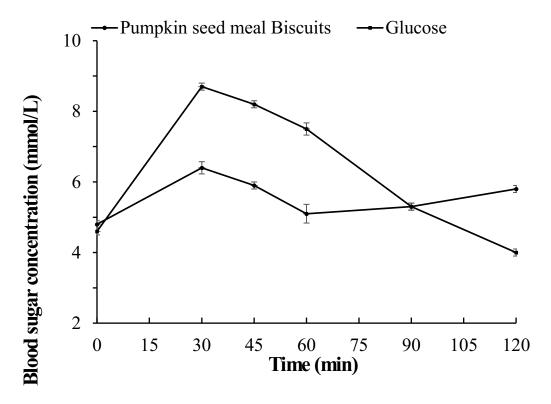


Fig. 4.4 Blood sugar curve

Fig. 4.4 depicts the postprandial blood glucose curves following consumption of 40 g of accessible carbohydrate from pumpkin seed meal biscuits and 40 g of glucose. Among the findings before 90 min, the glucose intake curve was steeper and higher than that of the biscuits added with pumpkin seed meal. The curve for ingesting glucose also decreased to a lower value than that of pumpkin seed meal after 90 minutes. The biscuits added with pumpkin seed meal had a GI vale of 40.5.

Table 4.6 **Digestive characteristics of pumpkin seed meal biscuits** 

Starch digestion	10	20	30	60	90	120	150	180
rate	min							
Control	23.94	33.58	56.29	62.36	76.88	78.21	78.33	78.91
(%)	±2.79	±3.37	±3.82	±2.34	±3.47	±2.33	±3.28	±3.54
Biscuits	6.52	17.37	21.45	26.39	38.47	41.66	42.12	43.35
(%)	±1.23	±2.22	±2.53	±3.57	±2.38	±3.59	±3.58	±2.31

As can be seen from Table 4.6, the hydrolysis rate of control group and pumpkin seed meal biscuits increased rapidly from 0 to 30 min. The hydrolysis rate of pumpkin seed meal biscuits increased from 90 to 180 min, and the hydrolysis rate was 43.35 % at 180 min. However, the hydrolysis rate of the control group increased more slowly than that of pumpkin seed meal biscuits, which reached 78.91% at 180 min. The difference between the control group and pumpkin seed meal biscuits might be resulted of the addition pumpkin seed meal provide more dietary fiber, which formed a network structure and limited the digestion of pumpkin seed meal biscuits.

# 4.1.8 Heavy elements, radioactive elements, and microbiological analysis of pumpkin seed meal biscuits

Table 4.7

Heavy elements, radioactive elements, and microbiological analysis of pumpkin seed meal biscuits

Heavy elements			
Pb (mg/kg)	0.017±0.0076		
As (mg/kg)	0.021±0.011		
Cd (mg/kg)	0.0021±0.0011		
Hg (mg/kg)	0.0028±0.0013		
Radioactive elements			
Cs-137	Not detected		
Sr-90	Not detected		
Microbiological analysis			
Total microbial population (CFU/g)	21		
Staphylococcus aureus count (CFU/g)	Not detected		

The heavy elements of Pb, As, Cd and Hg were 0.017, 0.021, 0.0021, and 0.0028 mg/kg, respectively. The radioactive elements like Cs-137 and Sr-90 were not detected. The total number of bacterial colonies was 21 CFU/g and the Staphylococcus aureus was not detected. This result meets the requirements of the

National food safety standards.

### 4.2 Study on pumpkin seed protein isolate meat product

The research of meat products was carried out at Hezhou University in China, Sumy National Agricultural University in Ukraine, the results of experiments are confirmed by relevant research protocols. Research protocols are given in the addition A. "Protocols of experimental data". Degustation of meat products with the addition of pumpkin seed meal protein isolate was carried out at Hezhou University in China. Degustation results were recorded in the relevant degustation protocols. Degustation protocols are given in the Addition B. "Degustation certificates".

# 4.2.1 The effect of pumpkin seed protein isolates on the quality of meat product

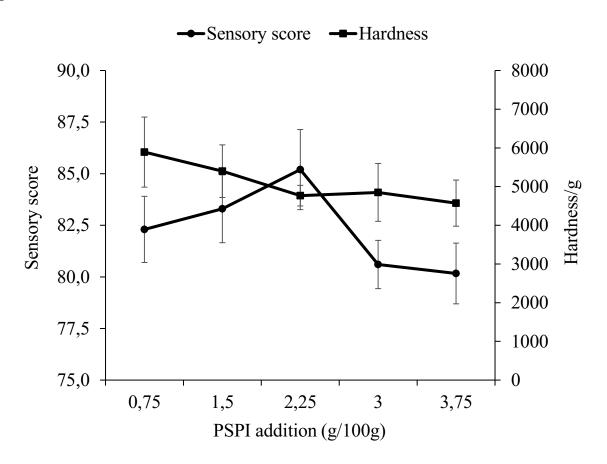


Fig. 4.5 Effect of pumpkin seed protein isolates on the quality of meat product

When oilseed meal proteins applied practically, the large percentage of oilseed meal proteins utilized in meat products would result in a loss in water absorption, soft quality structures, poor cohesiveness, and so on. As a result, the amount of pumpkin seed protein isolate was kept to a minimum in this experiment. As depicted in Fig. 4.5, the addition of 0.75 g/100 g of pumpkin seed protein isolate resulted in the maximum level of sausage hardness, while 3.75 g/100 g resulted in the lowest degree of sausage hardness. When the addition value of pumpkin seed protein isolates increased from 0.75 to 2.25 g/100 g, the sensory score displayed improved value. Due to the presence of bitter peptides, the sensory value of the sausages dropped as a result of the increased pumpkin seed protein isolates from 2.25 to 3.75 g/100 g, which caused them bitter taste. The average sensory score reached highest value when the pumpkin seed protein isolates of 2.25 g/100 g were added. Thus, the three levels of pumpkin seed protein isolate (3.0, 4.5, and 6.0 g) were chosen for the orthogonal test.

#### 4.2.2 The effect of lean meat on the quality of meat product

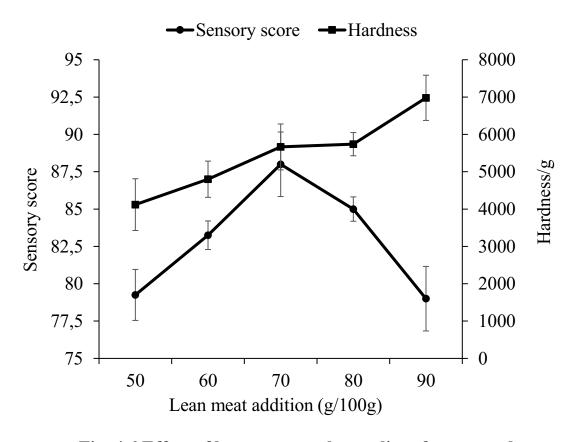


Fig. 4.6 Effect of lean meat on the quality of meat product

As illustrated in Fig. 4.6, the sensory score improved when the addition of lean meat increased from 50 to 70 g/100 g. The sausage structure became tightened in this range due to the increasing lean meat content, and the value of the sausage's hardness and meat flavor also improved. The sensory score declined as the addition of lean meat improved from 70 to 90 g/100 g, as a result, increasing the hardness of the sausage and making the sausage structure tighter. Thus, three levels of lean meat (60, 70, and 80 g/100 g) were chosen to conduct an orthogonal test according to the sensory score.

#### 4.2.3 The effect of cooking time on the quality of meat product

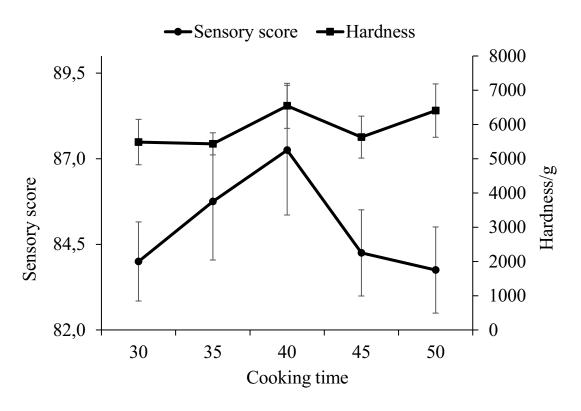


Fig. 4.7 Effect of cooking time on the quality of meat product

As presented in Fig. 4.7, the sensory score improved first and subsequently decreased when the cooking time increased. When the cooking time was extended from 30 to 40 minutes, the meat's aroma increased and the sausage's structure became tightened. When the cooking time was raised from 40 to 50 min, the sausage's structure became too tight and the fat within kept flowing out, which caused the casing broke. Thus, the three degrees of cooking time (35, 40, and 45 min) were chosen for the orthogonal test.

#### 4.2.4 The effect of baking time on the quality of meat product

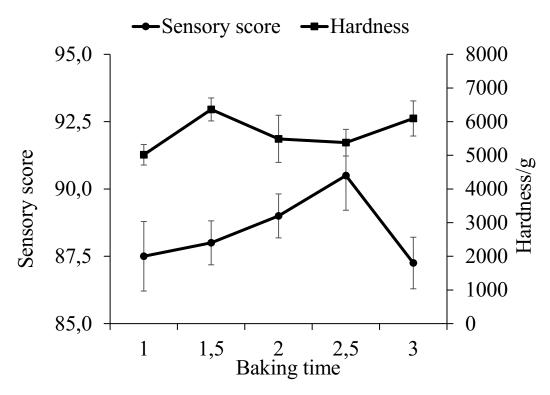


Fig. 4.8 Effect of baking time on the quality of meat product

Because the sausage's casing became tighter and chewier as baking time increased from 1 hour to 2.5 hours, the sensory score increased, as illustrated in Fig. 4.8. The sensory score was highest when the sausage baked for 2.5 hours. When the baking time was higher than 2.5 h, the sausage's ability to hold water reduced, its surface appeared uneven, and its hardness increased. Thus, the baking time of 2.5 hours was chosen as the fixed value of the orthogonal test based on the sensory assessment scores of these five levels.

### 4.2.5 Results of orthogonal test

Table 4.8 **Results of orthogonal test** 

No	PSPI	Blank	Lean meat	Cooking	Sensory
145	addition		addition	time	score
1	2	3	4	5	6
1	1	1	1	1	6.5
2	1	2	2	2	5.6

continuation of Table 4.8

					1 01 1 4010 1.0
3	1	3	3	3	8.2
4	2	1	2	3	6.8
5	2	2	3	1	5.6
6	2	3	1	2	6.8
7	3	1	3	2	5.8
8	3	2	1	3	5.4
9	3	3	2	1	5
K1	19.7	19.1	18.7	17.1	-
K2	18.2	19.4	17.4	18.2	-
К3	16.2	19.4	19	19.8	-
k1	6.6	6.4	6.2	5.7	-
k2	6.1	6.5	5.8	6.1	-
k3	5.4	6.5	6.3	6.6	-
R	1.2	0.1	0.5	0.9	-
Factor Priority			ACB		
Opt	Optimal combination			$A_1C_3B_3$	



Fig. 4.9 Final product of the meat product

The range (R) shows how much the variables affect the indicators. The range's impact on the sausage's quality increases as it gets wider. According to the

analysis of the data in Table 4.8, the amount of pumpkin seed protein isolate, followed by the cooking time and the quantity of lean meat, had the biggest effects on the sausage quality.  $A_1C_3B_3$ , which is shown in Table 4.8, is the optimal sausage formula parameters for pumpkin seed protein isolate. The optimal amount was pumpkin seed protein isolate of 1.5 g/ 100 g, lean meat of 80 g/ 100 g, and cooking time of 45 min. Results from orthogonal tests were triple-verified. The sensory score was 8.5 in the experiments that were verified. This is consistent with the orthogonal test.

# 4.2.6 Results of the nutritional indicators of pumpkin seed protein isolate meat product

Table 4.9

Nutritional indicators

Indicators	Sausage (With addition	Sausage (Without the
mulcators	of PSPI)	addition of PSPI)
Water (g/100 g)	51.16	52.23
Ash (g/100 g)	2.26	2. 26
Protein (g/100 g)	15.92	15.22
Fat (g/100 g)	22.73	23.15

As compared to the sausage without addition of PSPI, the amount of water, ash, protein, fat of pumpkin seed protein isolate sausage was 51.16, 2.26, 15.92, and 22.73 g/100 g, respectively. The sausage with the addition of pumpkin seed protein isolate contained higher protein and lower fat, which suggested that this kind of sausage is more benefit for human health.

Table 4.10 **Minerals of pumpkin seed protein isolate meat product** 

Minerals		
1	2	
Na (mg/100g)	2230.1±10.54	
P (mg/100g)	189±3.35	

continuation of Table 4.10

1	2
Ca (mg/100g)	17±0.82
Mg (mg/100g)	52±1.35
K (mg/100g)	453±7.23
Fe (mg/100g)	6.3±0.88
Zn (mg/100g)	6.53±0.87
Mn (mg/100g)	0.33±0.17
Cu (mg/100g)	0.018±0.0061

Minerals are one of the seven essential nutrients, which perform an important role in sausages. They cannot be synthesized in the body and must absorb through food or drinking water. The microminerals detected in this experiment were Na, P, Ca, Mg, as well as K and their contents in sausages were 2230.1, 189, 17, and 52 mg/100 g respectively. The trace elements determined in this study were Fe, Zn, Mn as well as Cu, and their contents in sausages were 6.3, 6.53, 0.33 and 0.018 mg/100 g, respectively. This result suggested that the pumpkin seed protein sausage can provide the body with certain mineral elements.

4.2.7 The digestibility of pumpkin seed protein isolate meat product

Table 4.11

Digestibility of pumpkin seed protein isolate meat product

Digestibility	Results
Digestibility	72.33±3.72
Gastric enzyme (%)	12.33±3.12
Digestibility of Gastric enzyme and	84.54±1.68
pancreatic enzyme (%)	0ד.5ד±1.00

After digestion of gastric enzyme, the digestibility was 72.33%. After further digested by the pancreatic enzymes, the digestibility was 84.54%.

# 4.2.8 Heavy elements, radioactive elements, and microbiological analysis of pumpkin seed protein isolate sausage

Table 4.12

Heavy elements, radioactive elements, and microbiological analysis of pumpkin seed protein isolate meat product

Heavy elements			
Pb (mg/kg)	0.023±0.0093		
As (mg/kg)	0.171±0.068		
Cd (mg/kg)	0.013±0.091		
Hg (mg/kg)	0.0041±0.0025		
Radioact	tive elements		
Cs-137	Not detected		
Sr-90	Not detected		
Microbiocidal analysis			
Total microbial population (CFU/g)	73		
Staphylococcus aureus count (CFU/g)	Not detected		

The heavy elements of Pb, As, Cd, and mercury were 0.023, 0.171, 0.0013, and 0.0041 mg/kg, respectively, which satisfy the national food safety standards. The radioactive elements of Cesium-137 and Strontium-90 were not detected in this study. After determination, the total number of bacterial colonies was 73 CFU/g and the Staphylococcus aureus was not detected. This result meets the requirements of the National food safety standards.

#### **Conclusions to Section 4**

1. The processing technology of pumpkin seed meal biscuits was optimized by single factor experiments and orthogonal experiments. The results suggested that with the increase of pumpkin seed meal, the hardness of the biscuits increased first and then decreased. When the ratio of low-gluten wheat powder, pumpkin seed meal, and konjac powder of 2:1:1, the amount of plant oil and butter of 4%

and 12%, respectively, and the amount of maltitol of 20%, the biscuits showed the best flavor and are more acceptable for consumers.

- 2. The nutritional composition and blood glucose curve of biscuits under the optimal process conditions were determined. The results showed that the biscuits contained proteins, fats, carbohydrates, minerals (K, Ca, F, Cu, Sn, Sr, Mg, Al, Co, Mo), and high dietary fiber. Microbiology analysis, heavy metal determination, and radioactive element detection showed that they meet the food safety requirements.
- 3. According to the single factor test and orthogonal test, the optimal condition was pumpkin seed protein isolate of 1.5 g/100 g, lean meat of 80 g/100 g, and cooking time of 45 min under the basic formula. The addition of pumpkin seed protein isolate can reduce the addition of animal meat products, thus reducing fat intake and good for human health.
- 4. The nutritional composition showed that the products contained moisture of 51.16 g/100 g, ash of 2.26 g/100 g, protein of 15.22 g/100 g and fat of 23.15 g/100 g and minerals. Microbiology analysis, heavy metal determination, and radioactive element detection showed that they meet the food safety requirements.

# SECTION 5 PRACTICAL IMPLEMENTATION OF PUMPKIN SEED MEAL PROTEIN ISOLATE AND FOOD PRODUCTS USING IT

In this section, the results of determining the socio-economic effect of the introduction of semi-finished products from pumpkin seed meal (pumpkin seed meal protein isolate) and culinary products using it are given, the cost is calculated, and generalized data on the approval of the research results are given. The economic feasibility of introducing developments into the practical activities of food industry enterprises and restaurant establishments has been proven.

# 5.1 Determination of the socio-economic effect of the introduction of the semi-finished product production technology from pumpkin seed meal

The assessment of the socio-economic effect of the introduction of semifinished products from pumpkin seed meal (pumpkin seed meal protein isolate) was carried out taking into account the following provisions.

In today's conditions, the formation of investment and current business activities of restaurant establishments is based on the search for innovations that can be brought to the stage of industrial application. From these positions, the technology of semi-finished products from pumpkin seed meal (pumpkin seed meal protein isolate) is quite attractive. Firstly, this technology implements the main components of the innovative development strategy - marketing, technological, organizational, technical, and secondly, the technological principles of obtaining semi-finished products from vegetable seeds are determined and substantiated during the research, which allow expanding the range of products, which according to marketing forecasts will be in demand by consumers.

The proposed technology involves complex processing of vegetable seeds, which was previously not used in the food industry due to the lack of industrial growing technologies. This approach to the processing of vegetable seeds makes it possible to reduce the cost of production and make it affordable from an economic point of view for the broad strata of the population of Ukraine, to increase the efficiency of production.

It is positive that pumpkin seed meal purchased from oil processing

enterprises of Ukraine is used as the main raw material in the technological cycle of pumpkin seed meal protein isolate production, which to a certain extent reduces the risks arising from the use of imported raw materials, namely, increased costs for transportation and storage, non-compliance with the delivery date, etc. The creation and implementation of such technologies is relevant in the conditions of the modern market economy of the state and is a priority direction of its development.

The technology of the semi-finished vegetable seed meal (pumpkin seed meal protein isolate) involves the use of natural raw materials of plant origin - pumpkin seeds. Under these conditions, the creation of products with high nutritional and biological value is ensured, which contributes to ensuring the health of consumers and increasing their working capacity.

A direct quantitative assessment of the effectiveness of this technology was carried out by calculating the cost of new products in comparison with the cost of market analogues (soybean protein isolate). To determine the cost of production at the first stage, the cost of raw materials and materials, which are necessary for the production of 1000 kg of semi-finished products from pumpkin seed meal, was calculated. Costs at each technological stage of the production of semi-finished products from pumpkin seed meal (pumpkin seed meal protein isolate) and the necessary equipment for this are shown in the table. 5.1.

Table 5.1

Scheme of cost modeling in the technology of a semi-finished product

from pumpkin seed meal

Stages of production	Articles of expenditure	Equipment/storage space required
1	2	3
Purchase of pumpkin	Purchase of pumpkin seed	
seed meal and its	meal	Composition of dry
storage for use in the	Electricity	products
technological process	Workforce	

continuation of Table 5.1

1	2	3
Dispersion of flour in	Water supply	Stainless steel
water	Electricity	containers with a total
	Workforce	volume of 1 m <sup>3</sup>
Protein extraction in an	Electricity	Mixer, production
alkaline environment	Workforce	table
	Water supply	The centrifuge is
Centrifugation	Electricity	industrial
	Workforce	
Protein extraction in	Electricity	Mixer, production
acidic medium	Workforce	table
	Water supply	The centrifuge is
Centrifugation	Electricity	industrial
	Workforce	
Drying	Electricity	Drying cabinet
Diying	Workforce	
	Packaging materials	Polystyrene bags,
Packaging and labeling	Electricity	vacuum cleaner,
	Workforce	production table, label
Storage	Electricity	Composition of dry
Storage	Workforce	products

Table 5.1 data make it possible to summarize the main items of costs in the production of a semi-finished product from pumpkin seed meal (pumpkin seed meal protein isolate), which is necessary to determine the total cost of production.

For a better understanding of the process of making a semi-finished product from pumpkin seed meal (pumpkin seed meal protein isolate), the costs of purchasing the necessary equipment for starting production and the costs of its operation have been calculated, according to the technical characteristics listed in the table. 5.2.

Table 5.2 **Costs of the main means of production and their operation** 

Necessary equipment	Brand, sizes	Quantity based on 1t of manufactured products, piece	Electricity consumption per 1t, kW	Water consumption per 1t, liters	Market value as of 2023, UAH.
Stainless steel container 0.5 m <sup>3</sup>	Barrel on legs with stainless steel drain	2	-	800	77400
Mixer	IP 180 XP BA Sirman 1422×700×1717	4	22	300	1232120
The centrifuge is industrial	LW355*1250-N 2900×1820×1802	1	37.5	-	535000
Drying cabinet	SP-1130 904×1401×900	3	180	-	551700
Industrial table	Chimneybud, 1800×700×850	2	-	-	38626
Vacuumizer	Vacuum packaging machine "Status SV-2000" 420×270×170	3	2.64	-	16350
In total					2451196

Table 5.2 data make it possible to calculate the cost of production, which will make it possible to determine the price range for a semi-finished product from

pumpkin seed meal (pumpkin seed meal protein isolate).

To calculate the full cost of production, we took into account the cost of all costs for the production and sale of manufactured products as of 2023 in Ukraine (Table 5.3).

Table 5.3

Calculation of the cost of a semi-finished product from pumpkin seed meal (pumpkin seed meal protein isolate)

Cost items for the production and sale of semi-finished products	Production factors per 1 ton of semi-finished products	Based on 1000 kg of semi- finished product as of 2023, UAH	
1	2	3	
Purchase of raw materials (60 UAH/kg)	2000 tons	12000	
	8 people/4 people per		
Labor force (number of employees	shift/12 hour working	50262.4	
and average daily wages)	day/15 working days per	58262.4	
	month		
Transportation	Delivery of 1t of raw	7500	
Transportation	materials once a day		
Electricity	242.14 kW	1150,165	
Water supply	1100 liters	35,915	
Rent of production premises 100	1 day	700	
$\mathrm{m}^{\;2}$	1 day	700	
	1000 polystyrene bags		
Product labeling and packaging	(Vacuum bag PA/PE	3200	
	transparent food)		
Production cost	-	82848.48	

## continuation of Table 5.3

	1		
1	2	3	
Equipment cost	2451196	-	
Costs for preparation, equipment	3.5% of the equipment	_	
and development of production	cost		
Depreciation of equipment taking			
into account the costs of starting	2536987.86 UAH/year	704.72	
production (based on 10 years)			
Costs for unsold products during	osts for unsold products during 2.5% of the production		
the storage period	cost	2071.21	
Costs due to technical failure	1% of the production cost	828.48	
Enterprise income tax 2 group of	Based on the production		
single tax payers 20% of the	of 30 tons of semi-	44.7	
minimum wage (1340	finished products per		
UAH/month )	month		
EUV of the enterprise 2 group of	Based on the production	49.1	
payers of the single tax 22% of the	of 30 tons of semi-		
minimum wage (1474	finished products per		
UAH/month )	month		
The minimum payment of	Based on the production	321.6	
personal income tax is 18% of the	of 30 tons of semi-		
minimum wage (1206	finished products per		
UAH/month ) for an employee	month (8 employees)		
The minimum payment of social	Based on the production	393.1	
security is 22% of the minimum	of 30 tons of semi-		
wage (1474 UAH/month) for an	finished products per		
employee	month (8 employees)		
The cost price is	87261.39		
Enterprise profit (minim	13089.21		
The cost is 10	100350.6		
VAT 209	20070.12		
Selling price 1	120420.72		

The average statistical rate of output from 1 ton of raw material (pumpkin seed meal) is 550 kg on average, but the protein isolate yield at the level of 500 kg was used in the calculations, because the content of crude protein in the meal can differ significantly. Since calculations are made based on 1 ton of finished products, it is established that 1 day will be spent on its production. The rent of a production space of 100 m<sup>2</sup> was determined on the basis of 1 working day with a total cost of 21,000 UAH for 30 days of rent. Labor costs were calculated in accordance with the Law of Ukraine "On the State Budget of Ukraine for 2023" dated November 3, 2022 № 2710 - IX and amount to UAH 40.46/hour with a 12hour shift work schedule. According to the tariffs for 2023, which are presented separately for each region in Ukraine, the average cost of 1 kW of electricity for voltage class two enterprises consuming more than 750 kW per month is UAH 4.75/kW. The cost of 1 m <sup>3</sup> of water on average in Ukraine and the tariff for centralized water supply and drainage services in the amount of UAH 32.65 are taken into account. After analyzing the freight transportation market in the sector of up to 5 tons, the cost per 1 km, on average in Ukraine, is UAH 15/km. The maximum distance of delivery of raw materials according to the maximum profitability of production is noted to be no more than 500 km, which is taken as a basis for calculations. The costs of preparation, equipment and mastering the production of products make up 3.5% of the cost of the equipment. Costs for unsold products during the storage period are 2.5% of the production cost. Costs due to technical defects make up 1% of the production cost.

Thus, the calculations made it possible to determine the selling price of 1000 kg of the developed product, which is 120420.72 UAH

It was determined that the introduction of semi-finished product technology in restaurants and food industry enterprises will allow the business entity to receive a profit of UAH 13.09...112.73 thousand for each ton of sold products.

To determine the selling price of a semi-finished product made from pumpkin seed meal (pumpkin seed meal protein isolate), the market price of its analogue, soy protein isolate, was taken into account, which was 250 UAH/kg on

average (the selling price of soy protein isolate is quite high, considering the average price of soy meal, which is UAH 25/kg, which is 58.3% lower than the price of pumpkin seed meal) as of 2023. Therefore, taking into account that the cost of pumpkin seed meal protein isolate is UAH 87.26/kg, the producers of this product can freely set the market price, determining the markup in the range from 15% (minimum markup) to 129.2% (maximum markup) at its discretion and depending on the situation in the region of sale and on the protein isolate market. This possibility of choosing a price will allow it to be adapted to the economy of the region and create the most competitive products from pumpkin seed meal protein isolate while maximizing profit.

### 5.2 Implementation of research results into practice

Based on the results of the innovative strategy of new product development, theoretical and experimental research, the technology of semi-finished products made from pumpkin seed meal (pumpkin seed meal protein isolate) and culinary products using it was tested and implemented in restaurants. The technical documentations TS 10.8-04718013-006:2022 "Pumpkin protein" (Addition C) and TS 10.3-04718013-008:2022 "Concentrated and dried taro products" (Addition D) was developed and approved, which regulates the technical requirements and technological process of production.

Developed and approved regulatory documentation in the People's Republic of China Q/YTBG-0001S-2022 "Pumpkin Seed Meal Cookies" (Addition E); Q/YTBG-0002S-2022 "Pumpkin Seed Protein Isolate Sausage" (Addition F); Q/YTBG-0003S-2022 "Pumpkin Seed Protein Isolate Cookies" (Addition G), which regulates the technical requirements and technological process of production at a food enterprise.

The semi-finished product made from pumpkin seed meal (pumpkin seed meal protein isolate) was introduced at the specialized enterprises, which is shown in Table 5.4.

Table 5.4

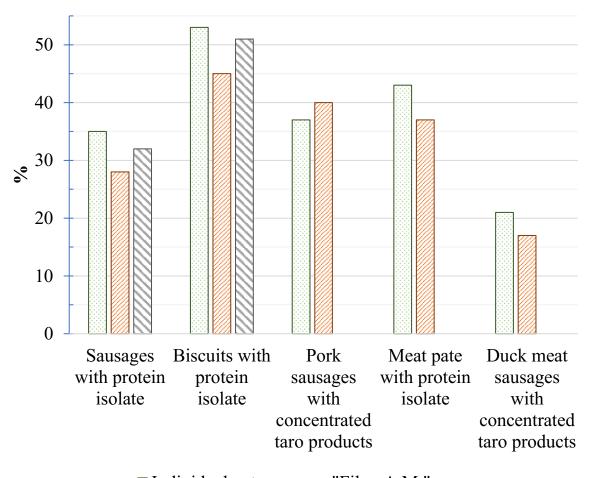
Certificates of implementation of a semi-finished product from pumpkin seed meal (pumpkin seed meal protein isolate)

Enterprise	Name	Addition	
	Technology of sausages using protein	Addition H	
	isolate from pumpkin seed meal		
	Technology of biscuits using protein	Addition I	
Individual	isolate from pumpkin seed meal	Addition	
entrepreneur "Filon	Technology of pork sausages using	Addition J	
A.M."	concentrated taro products	Addition 3	
A.IVI.	Technology of meat pate using protein	Addition K	
	isolate from pumpkin seed meal		
	Technology of duck meat sausages	Addition L	
	using concentrated taro products		
	Technology of sausages using protein	Addition M	
	isolate from pumpkin seed meal		
	Technology of biscuits using protein	Addition N	
Individual	isolate from pumpkin seed meal	Addition	
entrepreneur	Technology of pork sausages using  Addition		
"Klymenko L.O."	concentrated taro products	Audition O	
Krymenko L.O.	Technology of meat pate using protein	Addition P	
	isolate from pumpkin seed meal		
	Technology of duck meat sausages	Addition Q	
	using concentrated taro products		
Shenzhen Wah Tai	Pumpkin Seed Protein Isolate Sausage	Addition R	
Xing Foods Co., Ltd.	Pumpkin Seed Protein Isolate Cookies	Addition S	

The profitability of products from the sale of the experimental and industrial batch is shown in fig. 5.1.

According to fig. 5.1, profitability of products from the sale of a research

and industrial batch in the amount of 30 kg of finished products is at a high level. The proposed semi-finished product from pumpkin seed meal (pumpkin seed meal protein isolate) and examples of its use in optimized recipes for confectionery and sausage products allow the economically efficient use of semi-finished pumpkin seed meal (pumpkin seed meal protein isolate) at any food enterprises in Ukraine and China.



☐ Individual entrepreneur "Filon A.M."

Fig. 5.1. Product profitability

#### **Conclusions to Section 5**

1. Semi-finished products from pumpkin seed meal (pumpkin seed meal protein isolate) and culinary products using it at food enterprises and restaurant establishments was carried out. It is shown that the determined technological principles of production of new products make it possible to ensure complex

<sup>☑</sup> Individual entrepreneur "Klymenko L.O."

<sup>■</sup> Shenzhen Wah Tai Xing Foods Co., Ltd.

processing of pumpkin seeds, which helps to reduce the cost of production and increase the efficiency of the technological process.

- 2. A complex of organizational and technical measures was carried out to introduce new technologies at food enterprises and restaurant establishments: Individual entrepreneur "Filon A.M.", Shenzhen Wah Tai Xing Foods Co., Ltd., Individual entrepreneur "Klymenko L.O.".
- 3. The calculations made it possible to determine the selling price of 1000 kg of the developed product, which is 120420.72 UAH. It was determined that the introduction of semi-finished product technology in restaurants and food industry enterprises will allow the business entity to receive a profit of UAH 13.09...112.73 thousand for each ton of sold products.

#### **CONCLUSIONS**

- 1. The technology scheme of producing pumpkin seed protein isolate was studied, and the extraction rate and protein purity of pumpkin seed protein isolate in pumpkin seed meal was improved by ultrasound-assisted alkali-soluble acid precipitation extraction method. With the improved technology, the extraction rate of pumpkin seed protein isolate can reach and the protein purity can reach.
- 2. The functional properties of pumpkin seed protein isolate were improved by pH-shifting, and it was found that this method could significantly improve the gel properties, solubility and emulsification of pumpkin seed protein isolate, which was effective for the expand applications of pumpkin seed protein isolate in different types of food products.
- 3. On the basis of theoretical generalization and experimental research, it is proved that pumpkin seed cake and pumpkin seed protein isolate can be used as food raw materials to add to the product, providing additional nutritional components and functional characteristics for the product, which is suitable and possible. Pumpkin seed cake cookies have been shown to have the ability to lower the glycemic index, which is beneficial for reducing obesity, increasing gastrointestinal motility and maintaining intestinal health. The sausage with pumpkin seed protein isolate proves that pumpkin seed protein isolate can replace part of meat to be added to the sausage, which will reduce the intake of animal fat and be more beneficial to human health.
- 4. The formulations of pumpkin seed meal biscuits and pumpkin seed protein isolate sausage were determined by single factor experiments and orthogonal experiments. For biscuits, the optimal addition amount of the ratio of the main material (low-gluten wheat powder, pumpkin seed meal, and konjac powder) was 2:1:1, the amount of plant oil and butter was 4 % and 12 %, respectively, and maltitol amount was 20 %. For sausage, the optimal addition amount of pumpkin seed protein isolate was 1.5 g/100 g, lean meat was 80 g/100 g, cooking time was 45 min, and baking time was 2.5 h. Under these conditions, the biscuit and sausage have high acceptability. The heavy metal content, the total

bacterial count and staphylococcus aureus can meet the food safety standard.

- 5. The addition of pumpkin seed meal to biscuits can improve the protein content, from 19.5 to 20.4 g/100 g, and also increase the dietary fiber, from 18.3 to 19.1. While adding pumpkin seed protein isolate to the sausage can improve the protein from 14.72 to 15.22 g/100 g, and also reduce the fat from 24.13 to 23.15 g/100 g.
- 6. Industrial tests of the developed technology have shown that the introduction of semi-finished technology (pumpkin seed protein isolate) in certain restaurants and food industry enterprises can help reduce production costs and increase company profits.

#### **REFERENCES**

- 1. USDA. (2021). Oilseeds: World Markets and Trade. Foreign Agricultural Service/USDA. https://apps.fas.usda.gov/psdonline/app/index.html#/app/home.%0Ahttps://apps.fas.usda.gov/psdonline/circulars/oilseeds.
- 2. Bárta, J., Bártová, V., Jarošová, M., et al. (2021). Oilseed Cake Flour Composition, Functional Properties and Antioxidant Potential as Effects of Sieving and Species Differences. *Foods*, 10(11), 2766.
- 3. Teh, S. S., and Bekhit, A. E. D. A. (2015). Utilization of oilseed cakes for human nutrition and health benefits. *Agricultural biomass based potential materials*, 191-229.
- 4. FAO Statistics Division. (2010). FAOSTAT: Agriculture Organization of the United Nations (FAO). http://faostat.fao.org/site/567/DesktopDefault.aspx?PageID=567#ancor.
- 5. Singh, R., Langyan, S., Sangwan, S., et al. (2022). Protein for Human Consumption From Oilseed Cakes: A Review. *Frontiers in Sustainable Food Systems*, 101.
- 6. Gupta, A., Sharma, A., Pathak, R., et al. (2018). Solid state fermentation of non-edible oil seed cakes for production of proteases and cellulases and degradation of anti-nutritional factors. *Journal Food Biotechnol Biotechnology Research*, 1, 3-8.
- 7. Ancuţa, P., and Sonia, A. (2020). Oil Press-Cakes and Meals Valorization through Circular Economy Approaches: A Review. *Applied Sciences*, *10*(21), 7432.
- 8. Sarwar, M. F., Sarwar, M. H., Sarwar, M., et al. (2013). The role of oilseeds nutrition in human health: A critical review. *Journal of Cereals and Oilseeds*, 4(8), 97-100.
- 9. Rosset, M., Acquaro, V. R., and Beléia, A. D. P. (2014). Protein Extraction from Defatted Soybean Flour with V iscozyme L Pretreatment. *Journal of Food Processing and Preservation*, 38(3), 784-790.

- 10. Chan, K. W., Khong, N. M. H., Iqbal, S., et al. (2013). Defatted Kenaf Seed Meal (DKSM): Prospective edible flour from agricultural waste with high antioxidant activity. *LWT Food Science and Technology 53*(1), 308–13.
- 11. Leonard, W., Zhang, P., and Ying, D. (2020). Hempseed in food industry: nutritional value, health benefits, and industrial applications. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 19(1), 282-308.
- 12. Zhao, G., Liu, Y., Ren, J., et al. (2013). Effect of protease pretreatment on the functional properties of protein concentrate from defatted peanut flour. *Journal of Food Process Engineering*, *36*(1), 9–17.
- 13. Segura-Campos, M. R., Ciau-Solís, N., Rosado-Rubio, G., et al. (2014). Chemical and functional properties of chia seed (Salvia hispanica L.) gum. *International Journal of Food Science & Technology*, 1-5.
- 14. Popović, S., Peričin, D., Vaštag, Ž., et al. (2011). Evaluation of edible film-forming ability of pumpkin oil cake; effect of pH and temperature. *Food Hydrocolloids*, *25*(3), 470-476.
- 15. Nwokolo, E., and Sim, J. S. (1987). Nutritional assessment of defatted oil meals of melon and fluted pumpkin by chick assay. *Journal of the Science of Food and Agriculture*(38), 237-246.
- 16. Vinayashree, S., and Vasu, P. (2021). Biochemical, nutritional and functional properties of protein isolate and fractions from pumpkin (Cucurbita moschata var. Kashi Harit) seeds. *Food Chemistry*, *340*, 128177.
- 17. Peričin, D., Krimer, V., Trivić, S., et al. (2009). The distribution of phenolic acids in pumpkin's hull-less seed, skin, oil cake meal, dehulled kernel and hull. *Food Chemistry*, 113(2), 450-456.
- 18. Liu, Y. M., Gao, Z. M., Wang, J., et al. (2010). Study on the nutritional composition of naked kernel pumpkin seeds and pumpkin seed oil. *Science and Technology of Food Industry*, *31*(06), 313-316.
- 19. Mattila, P., Mäkinen, S., Eurola, M., et al. (2018). Nutritional Value of Commercial Protein-Rich Plant Products. *Plant Foods for Human Nutrition*, 73(2), 108-115.

- 20. Zając, M., Guzik, P., Kulawik, P., et al. (2019). The quality of pork loaves with the addition of hemp seeds, de-hulled hemp seeds, hemp protein and hemp flour. *LWT Food Science and Technology*, *105*, 190-199.
- 21. Day, L. (2013). Proteins from land plants Potential resources for human nutrition and food security. *Trends in Food Science & Technology*, 32(1), 25-42.
- 22. Pojić, M., Mišan, A., and Tiwari, B. (2018). Eco-innovative technologies for extraction of proteins for human consumption from renewable protein sources of plant origin. *Trends in Food Science and Technology*, 75, 93-104.
- 23. De Boer, J., and Aiking, H. (2011). On the merits of plant-based proteins for global food security: Marrying macro and micro perspectives. *Ecological Economics*, 70(7), 1259-1265.
- 24. Gilland, B. (2002). World population and food supply can food production keep pace with population growth in the next half century. *Food policy*, *27*(1), 47-63.
- 25. Foward. (2021). Report of market demand and investment planning analysis on China vegetable protein beverage industry (2021-2026). Forward business information co.,ltd. Shenzhen.
- 26. Hoekstra, A. Y., and Chapagain, A. K. (2006). Water footprints of nations: Water use by people as a function of their consumption pattern. *Water Resources Management*, 21(1), 35-48.
- 27. Gilland, B. (2015). Plant protein and animal proteins: do they differentially affect cardiovascular disease risk. *Advances in nutrition*, 6(6), 712-28.
- 28. Berrazaga, I., Micard, V., Gueugneau, M., et al. (2019). The Role of the Anabolic Properties of Plant- versus Animal-Based Protein Sources in Supporting Muscle Mass Maintenance: A Critical Review. *Nutrients*, *11*(8).
- 29. Kristensen, M. D., Bendsen, N. T., Christensen, S. M., et al. (2016). Meals based on vegetable protein sources (beans and peas) are more satiating than

- meals based on animal protein sources (veal and pork) a randomized cross-over meal test study. *A. Food & Nutrition Research*, *60*, 32634.
- 30. Hemler, E. C., and Hu, F. B. (2019). Plant-Based Diets for Personal, Population, and Planetary Health. *Advances in Nutrition*, 10(Suppl\_4), S275-S283.
- 31. Sá, A. G. A., Moreno, Y. M. F., and Carciofi, B. A. M. (2020). Plant proteins as high-quality nutritional source for human diet. *Trends in Food Science & Technology*, *97*, 170-184.
  - 32. Technavio, G. S. F. M.-K. D. a. F. f. (2017. 6.19). Business Wire.
- 33. Sawe, B. E. (2019. WorldAtlas). Countries with the highest rates of vegetarianism.
- 34. González-Pérez, S., and Arellano, J. B. (2009). Vegetable protein isolates//Handbook of hydrocolloids. Woodhead Publishing. 383-419.
- 35. Chen, W., Ma, X., Wang, X., et al. (2019). Establishment of a rapeseed meal fermentation model for iturin A production by Bacillus amyloliquefaciens CX-20. *Microbial Biotechnology*, *12*(6), 1417-1429.
- 36. Haque, M. A., Aldred, P., Chen, J., et al. (2013). Comparative study of denaturation of whey protein isolate (WPI) in convective air drying and isothermal heat treatment processes. *Food Chemistry*, 702-711(141), 2.
- 37. Sari, Y. W., Bruins, M. E., and Sanders, J. P. (2013). Enzyme assisted protein extraction from rapeseed, soybean, and microalgae meals. *Industrial Crops and Products*, 43, 78-83.
- 38. Liu, J. J., Gasmalla, M. A. A., Li, P.,, and Yang, R. (2016). Enzymeassisted extraction processing from oilseeds: Principle, processing and application. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, *35*, 184-193.
- 39. Ochoa-Rivas, A., Nava-Valdez, Y., Serna-Saldívar, S. O., et al. (2016). Microwave and Ultrasound to Enhance Protein Extraction from Peanut Flour under Alkaline Conditions: Effects in Yield and Functional Properties of Protein Isolates. *Food and Bioprocess Technology*, *10*(3), 543-555.
  - 40. Watanabe, M., Maeda, I., Koyama, M., et al. (2015). Simultaneous

- recovery and purification of rice protein and phosphorus compounds from full-fat and defatted rice bran with organic solvent-free process. *Journal Bioscience and Bioengineering*, 119(2), 206-211.
- 41. Kadam, S. U., Tiwari, B. K., and O'Donnell, C. P. (2013). Application of novel extraction technologies for bioactives from marine algae. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 61(20), 4667-75.
- 42. Bendicho, C., De La Calle, I., Pena, F., et al. (2012). Ultrasound-assisted pretreatment of solid samples in the context of green analytical chemistry. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, *31*, 50-60.
- 43. Chemat, F., and Khan, M. K. (2011). Applications of ultrasound in food technology: processing, preservation and extraction. *Ultrasonics sonochemistry*, *18*(4), 813-835.
- 44. Pojić, M., Mišan, A., and Tiwari, B. (2018). Eco-innovative technologies for extraction of proteins for human consumption from renewable protein sources of plant origin. *Trends in Food Science & Technology*, 75, 93-104.
- 45. Yang, X., Li, Y., Li, S., Oladejo, A. O., Wang, Y., Huang, S., et al. . (2017). Effects of low power density multi-frequency ultrasound pretreatment on the enzymolysis and the structure characterization of defatted wheat germ protein. *Food Engineering Reviews*(38), 410–420.
- 46. Li, H., Zhu, K., Zhou, H., et al. (2016). Comparative study of four physical approaches about allergenicity of soybean protein isolate for infant formula. *Food and Agricultural Immunology*, 27(5), 604-623.
- 47. Bu, G., Yang, Y., Chen, F., et al. (2014). Extraction and physicochemical properties of soya bean protein and oil by a new reverse micelle system compared with other extraction methods. *International Journal of Food Science & Technology*, 49(4), 1079-1089.
- 48. Sun, X. H., Zhu, K. X., and Zhou, H. M. (2009). Optimization of a novel backward extraction of defatted wheat germ protein from reverse micelles. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 10(3), 328-333.
  - 49. Zhao, X., Zhu, H., and Chen, J. (2015). Effects of sodium bis(2-

- ethylhexyl) sulfo succinate (AOT) reverse micelles on physicochemical properties of soy protein. *Food and Bioproducts Processing*, *94*, 500-506.
- 50. Zhang, X., Ren, X., Zhao, X., et al. (2022). Comparative effects of extraction methods on functional and structural features of subunits from 11S soy protein fraction. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 16(5), 3855-3867.
- 51. Chabanon, G., Chevalot, I., Framboisier, X., et al. (2007). Hydrolysis of rapeseed protein isolates: Kinetics, characterization and functional properties of hydrolysates. *Process Biochemistry*, 42(10), 1419-1428.
- 52. Kinsella, J. E. (1979). Functional properties of soy proteins. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, *56*(3Part1), 242-258.
- 53. Wang, Q., Jin, Y., and Xiong, Y. L. (2018). Heating-aided pH shifting modifies hemp seed protein structure, cross-linking, and emulsifying properties. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 66(41), 10827-10834.
- 54. Jiang, J., Xiong, Y. L., and Chen, J. (2011). Role of beta-conglycinin and glycinin subunits in the pH-shifting-induced structural and physicochemical changes of soy protein isolate. *Journal of food science*, 76(2), C293-302.
- 55. Kinsella, J. E., and Melachouris, N. (1976). Functional properties of proteins in foods: A survey. *Critical Reviews in Food Science & Nutrition*, 7(3), 219-280.
- 56. Jiang, J., Chen, J., and Xiong, Y. L. (2009). Structural and emulsifying properties of soy protein isolate subjected to acid and alkaline pH-shifting processes. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *57*(16), 7576-7583.
- 57. Jiang, S., Ding, J., Andrade, J., et al. (2017). Modifying the physicochemical properties of pea protein by pH-shifting and ultrasound combined treatments. *Ultrasonics Sonochemistry*, *38*, 835-842.
- 58. Li, J., Wu, M., Wang, Y., et al. (2020). Effect of pH-shifting treatment on structural and heat induced gel properties of peanut protein isolate. *Food Chemistry*, 325, 126921.
  - 59. Liu, Q., Geng, R., Zhao, J., et al. (2015). Structural and gel textural

- properties of soy protein isolate when subjected to extreme acid pH-shifting and mild heating processes. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 63(19), 4853-4861.
- 60. Hultin, H. O., and Kelleher, S. D. (1999). Process for isolating a protein composition from a muscle source and protein composition. *U.S. Patent 6*, 005(073), 12-21.
- 61. Chang, C., Niu, F., Su, Y., et al. (2016). Characteristics and emulsifying properties of acid and acid-heat induced egg white protein. *Food Hydrocolloids*, *54*, 342-350.
- 62. Jiang, J., Zhu, B., Liu, Y., et al. (2014). Interfacial structural role of pH-shifting processed pea protein in the oxidative stability of oil/water emulsions. *Journal of agricultural and food chemistry*, 62(7), 1683-1691.
- 63. Akesowan, A. (2008). Effect of soy protein isolate on quality of light pork sausages containing konjac flour. *African Journal of Biotechnology*, 7(24), 4586-459.
- 64. Ahmad, S., Rizawi, J. A., and Srivastava, P. K. (2010). Effect of soy protein isolate incorporation on quality characteristics and shelf-life of buffalo meat emulsion sausage. *Journal of food science and technology*, 47, 290-294.
- 65. Li, Y., Sukmanov, V., Kang, Z. L., et al. (2020). Effect of soy protein isolate on the techno-functional properties and protein conformation of low-sodium pork meat batters treated by high pressure. *Journal of Food Process Engineering*, 43(2), e13343.
- 66. Gao, X., Xiong, G., Fu, L., et al. (2019). Water distribution of raw and heat-induced gelation of minced pork paste prepared by soy protein isolates and carrageenan: Ingredients modify the gelation of minced pork. *Journal of Food Processing and Preservation*, 43(12), e14221.
- 67. Rababah, T. M., Al-Mahasneh, M. A., and Ereifej, K. I. (2006). Effect of chickpea, broad bean, or isolated soy protein additions on the physicochemical and sensory properties of biscuits. *Journal of Food Science*, 71(6), S438-S442.
  - 68. Hassanzadeh-Rostami, Z., Abbasi, A., and Faghih, S. (2020). Effects of

- biscuit fortified with whey protein isolate and wheat bran on weight loss, energy intake, appetite score, and appetite regulating hormones among overweight or obese adults. *Journal of Functional Foods*, 70, 103743.
- 69. Akesowan, A. (2009). Influence of soy protein isolate on physical and sensory properties of ice cream. *Thai Journal of Agricultural Science*, 42(1), 1-6.
- 70. Guler-Akin, M. B., Avkan, F., and Akin, M. S. (2021). A novel functional reduced fat ice cream produced with pea protein isolate instead of milk powder. *Journal of Food Processing and Preservation*, 45(11), e15901.
- 71. Beuchat, L. R. (1977). Functional and electrophoretic characteristics of succinylated peanut flour protein., 1977, 25 (2): 258-261. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 25(2), 258-261.
- 72. Huang, X., Tu, R., Song, H., et al. (2022). Fabrication and characterization of gelatin-EGCG-pectin ternary complex: formation mechanism, emulsion stability, and structure. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 103(3), 1442-1453.
- 73. Aderinola, T. A., Alashi, A. M., Nwachukwu, I. D., et al. (2020). In vitro digestibility, structural and functional properties of Moringa oleifera seed proteins. *Food Hydrocolloids*, *101*, 105574.
- 74. Selahvarzi, A., Sanjabi, M. R., Ramezan, Y., et al. (2021). Evaluation of physicochemical, functional, and antimicrobial properties of a functional energy drink produced from agricultural wastes of melon seed powder and tea stalk caffeine. *Journal of Food Processing and Preservation*, 45(9), e15726.
- 75. Selahvarzi, A., Ramezan, Y., Sanjabi, M. R., et al. (2021). Investigation of antimicrobial activity of orange and pomegranate peels extracts and their use as a natural preservative in a functional beverage. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 15(6), 5683-5694.
- 76. Hu, H., Fan, X., Zhou, Z., et al. (2013). Acid-induced gelation behavior of soybean protein isolate with high intensity ultrasonic pre-treatments. *Ultrasonics sonochemistry*, 20(1), 187-195.
  - 77. Liu, C., Wang, X., Ma, H., et al. (2008). Functional properties of protein

- isolates from soybeans stored under various conditions. *Food Chemistry*, 111(1), 29-37.
- 78. Li, S., Wei, Y., Fang, Y., et al. (2013). DSC study on the thermal properties of soybean protein isolates/corn starch mixture. *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*, 115(2), 1633-1638.
- 79. Gao, Y., Sun, Y., Zhang, Y., et al. (2022). Extrusion Modification: Effect of Extrusion on the Functional Properties and Structure of Rice Protein. *Processes*, *10*(9), 1871.
- 80. Huang, Z., Sun, J., Zhao, L., et al. (2022). Analysis of the gel properties, microstructural characteristics, and intermolecular forces of soybean protein isolate gel induced by transglutaminase. *Food Science & Nutrition*, 10(3), 772-783.
- 81. Jiang, S., Ding, J., Andrade, J., et al. (2017). Modifying the physicochemical properties of pea protein by pH-shifting and ultrasound combined treatments. *Ultrason. Sonochem*, *38*, 835-842.
- 82. Kim, M. J., Choi, S. J., Shin, S. I., et al. (2008). Resistant glutarate starch from adlay: Preparation and properties. *Carbohydrate Polymers*, *74*(4), 787-796.
- 83. Sun, C., Liu, R., Wu, T., et al. (2015). Effect of superfine grinding on the structural and physicochemical properties of whey protein and applications for microparticulated proteins. *Food science and biotechnology, 24*(5), 1637-1643.
- 84. Standardization Administration of the People's Republic of China. (2016). GB 5009.6-2016 National Food Safety Standard Determination of Fat in Food.
- 85. Standardization Administration of the People's Republic of China. (2016). GB 5009.5-2016 National Food Safety Standard Determination of Protein in Food.
- 86. Standardization Administration of the People's Republic of China. (2016). GB 5009.4-2016 National Food Safety Standard Determination of Ash in

Food.

- 87. Standardization Administration of the People's Republic of China. (2015). GB 5009.88-2014 National Food Safety Standard Determination of Dietary Fiber in Food.
- 88. National Health Commission of the People's Republic of China. (2019). WS/T 652-2019 Determination of food glycemic index (release).
- 89. Miao, P. P. (2021). Improvement and quality characteristics of low GI bread fermented by compound bacteria [D]. Hebei: College of Biological Science and Engineering, Hebei University of Economics and Business.
- 90. Standardization Administration of the People's Republic of China. (2016). GB 4789.2-2016 National Food Safety Standard Determination of total microbial population in Food.
- 91. Standardization Administration of the People's Republic of China. (2016). GB 4789.3-2016 National Food Safety Standard Determination of Staphylococcus aureus count in Food.
- 92. Luo, B. L., Dong, W. J., Liu, D. H., et al. (2022). Effect of Coffee Peel Powder on Biscuit Quality and Starch Digestibility. *Chinese Journal of Tropical Crops*(8), 1678-1685.
- 93. Kiosseoglou, V., Paraskevopoulou, A., and Poojary, M. M. (2021). Functional and physicochemical properties of pulse proteins. In Pulse foods. *Academic Press*, 113-116.
- 94. Sai-Ut, S., Ketnawa, S., Chaiwut, P., et al. (2009). Biochemical and functional properties of proteins from red kidney, navy and adzuki beans. *Asian Journal of Food and Agro-Industry*, *2*(4), 493-504.
- 95. Bos, M. A., and Van, V. T. (2001). Interfacial rheological properties of adsorbed protein layers and surfactants: a review. *Advances in colloid and interface science*, 91(3), 437-471.
- 96. Hung, S. C., and Zayas, J. F. (1991). Emulsifying capacity and emulsion stability of milk proteins and corn germ protein flour. *J. Food Sci*, 56(5), 1216-1218.

- 97. Bučko, S., Katona, J., Popović, L., et al. (2016). Influence of enzymatic hydrolysis on solubility, interfacial and emulsifying properties of pumpkin (Cucurbita pepo) seed protein isolate. *Food Hydrocoll*, 60, 271-278.
- 98. Kalman, D. S. (2014). Amino Acid Composition of an Organic Brown Rice Protein Concentrate and Isolate Compared to Soy and Whey Concentrates and Isolates. *Foods*, *3*(3), 394-402.
- 99. Zheng, L., Zhao, Y., Xiao, C., et al. (2015). Mechanism of the discrepancy in the enzymatic hydrolysis efficiency between defatted peanut flour and peanut protein isolate by Flavorzyme. *Food Chem*, *168*, 100-6.
- 100. Chen, K. Y. (2015). Effects of 11S/2S Ratios and Heat Treatment on Structural and Functional Properties of Sunflower Protein Isolate. Qiqihar University.
- 101. Wang, F., Qiao, L., Zhang, Q. Q., et al. (2014). Study on ultrasonic extraction of mulberry leaf protein. *Journal of Shanxi Agricultural Sciences*, 42(2), 174-177.
- 102. Li, G. F., He, Z. J., Yang, T. Y., et al. (2019). Process optimization on ultrasonic assisted extraction of mulberry leaf protein. *The Food Industry*, 40(10), 15-18.
- 103. Li, S. H., Li, S., and Li, C. C. (2021). Interpretation of progress in food technology of ultrasound and physical fields. *Food Safety Guide*(22), 147-151.
- 104. Yeneneh, A. M., Kayaalp, A., Sen, T. K., et al. (2015). Effect of microwave and combined microwave ultrasonic pretreatment on anaerobic digestion of mixed real sludge. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 3(4), 2514-2521.
- 105. Yu, B., Ren, F., Zhao, H., et al. (2020). Effects of native starch and modified starches on the textural, rheological and microstructural characteristics of soybean protein gel. *International Journal of Biological Macromolecules*, *142*, 237-243.
- 106. Lanza, B., and Amoruso, F. (2018). Measurement of kinaesthetic properties of in-brine table olives by microstructure of fracture surface, sensory

- evaluation and texture profile analysis (TPA). *J Sci Food Agric*, 98(11), 4142-4150.
- 107. Nishinari, K., Kohyama, K., Kumagai, H., et al. (2013). Parameters of texture profile analysis. *Food Science and Technology Research*, 19(3), 519-521.
- 108. Li, Y., Wang, Q., Guo, L., et al. (2019). Effects of ultrafine comminution treatment on gelling properties of myofibrillar proteins from chicken breast. *Food Hydrocolloids*, *97*, 105199.
- 109. Yongsawatdigul, J., and Hemung, B. O. (2010). Structural changes and functional properties of threadfin bream sarcoplasmic proteins subjected to pH-shifting treatments and lyophilization. *J Food Sci*, 75(3), C251-7.
- 110. Guo, Y., Hu, H., Wang, Q., et al. (2018). A novel process for peanut tofu gel: Its texture, microstructure and protein behavioral changes affected by processing conditions. *Lwt*, *96*, 140-146.
- 111. Abdollahi, M., Rezaei, M., Jafarpour, A., et al. (2018). Sequential extraction of gel-forming proteins, collagen and collagen hydrolysate from gutted silver carp (Hypophthalmichthys molitrix), a biorefinery approach. *Food Chem*, *242*, 568-578.
- 112. Chen, W., Wang, W., Ma, X., et al. (2019). Effect of pH-shifting treatment on structural and functional properties of whey protein isolate and its interaction with (-)-epigallocatechin-3-gallate. *Food Chemistry*, 274, 234-241.
- 113. Li, Y., Cheng, Y., Zhang, Z., et al. (2020). Modification of rapeseed protein by ultrasound-assisted pH shift treatment: Ultrasonic mode and frequency screening, changes in protein solubility and structural characteristics. *Ultrason Sonochem*, 69, 105240.
- 114. Chen, Y., Sheng, L., Gouda, M., et al. (2019). Impact of ultrasound treatment on the foaming and physicochemical properties of egg white during cold storage. *Lwt*, *113*, 108303.
- 115. Jiang, J., Xiong, Y. L., and Chen, J. (2010). pH shifting alters solubility characteristics and thermal stability of soy protein isolate and its globulin fractions in different pH, salt concentration, and temperature conditions.

- Journal of Agricultural and Food Chemistry, 58(13), 8035-8042.
- 116. Shand, P. J., Ya, H., Pietrasik, Z., et al. (2007). Physicochemical and textural properties of heat-induced pea protein isolate gels. *Food Chem, 102*(4), 1119-1130.
- 117. Bulaj, G. (2005). Formation of disulfide bonds in proteins and peptides. *Biotechnology Advances*, 23(1), 87-92.
- 118. Gong, K. J., Shi, A. M., Liu, H. Z., et al. (2016). Emulsifying properties and structure changes of spray and freeze-dried peanut protein isolate. *Journal of Food Engineering*, 170, 33-40.
- 119. Zhang, S. B., and Lu, Q. Y. (2015). Characterizing the structural and surface properties of proteins isolated before and after enzymatic demulsification of the aqueous extract emulsion of peanut seeds. *Food Hydrocolloids*, 47, 51-60.
- 120. Mohan, M., Ramachandran, D., and Sankar, T. V. (2006). Functional properties of Rohu (Labeo rohita) proteins during iced storage. *Food Research International*, *39*(8), 847-854.
- 121. Zhang, Q. T., Tu, Z. C., Xiao, H., et al. (2014). Influence of ultrasonic treatment on the structure and emulsifying properties of peanut protein isolate. *Food and Bioproducts Processing*, *92*(1), 30-37.
- 122. Paraman, I., Hettiarachchy, N. S., Schaefer, C., et al. (2007). Hydrophobicity, solubility, and emulsifying properties of enzyme-modified rice endosperm protein. *Cereal Chemistry*, 84(4), 343-349.
- 123. Keerati-u-rai, M., Miriani, M., Iametti, S., et al. (2012). Structural changes of soy proteins at the oil-water interface studied by fluorescence spectroscopy. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, *93*, 41-8.
- 124. Li, M., Zhang, Y., You, X., et al. (2021). Effects of different drying technologies on the quality characteristics and microstructure of walnut meal protein powder. *Shipin Kexue/Food Science*, 42(5), 92-98.
- 125. Silva, J. V., and O'Mahony, J. A. (2017). Flowability and wetting behaviour of milk protein ingredients as influenced by powder composition, particle size and microstructure. *International Journal of Dairy Technology*, 70(2),

277-286.

- 126. James, B. (2005). Foreign Body Contamination of Food Scanning Electron Microscopy and Energy Dispersive Spectroscopy as Tools for Identification. *International Journal of Food Engineering*, *1*(1), 1-15.
- 127. Kan, X., Chen, G., Zhou, W., et al. (2021). Application of protein-polysaccharide Maillard conjugates as emulsifiers: Source, preparation and functional properties. *Food Research International*, *150*, 110740.
- 128. Boye, J. I., Aksay, S., Roufik, S., et al. (2010). Comparison of the functional properties of pea, chickpea and lentil protein concentrates processed using ultrafiltration and isoelectric precipitation techniques. *Food Research International* 43(2), 537-546.
- 129. Yu, Y., Guan, Y., Liu, J., et al. (2021). Molecular structural modification of egg white protein by pH-shifting for improving emulsifying capacity and stability. *Food Hydrocolloids*, *121*, 107071.
- 130. Nishinari, K., Kohyama, K., Kumagai, H., et al. (2013). Parameters of texture profile analysis. *Food Science and Technology Research*, 19(3), 519-521.
- 131. Liu Zhe, Y. Y., Li, S., Meng, Q., et al. (2021). Response Surface Design Optimization of Biscuit Formula Using Quinoa Distiller's Grains. *Food Research and Development*, 42(17), 129-136.



# Addition A "Protocols of experimental data"

### PROTOCOL OF EXPERIMENTAL DATA № 1 from January 29, 2020

#### 1. Indicators of basic composition analysis of the pumpkin seed meal\*

Indicators Pumpkin seed meal		Method name and number
Protein (%)	50.91±7.52	Kjeldahl determination (GB 5009.5-2016)
Fat (%) 11.29±1.45		Soxhlet extraction (GB 5009.6-2016)
Water (%)	8.44±0.26	Infrared moisture analyzer (According to 2.2.29)

## 2. Results of single factor experiments of extraction of pumpkin seed protein isolate $\ensuremath{^*}$

Single factor experiments	Yield (%)	Method name and number		
Ratio of solid to liquid, 1:20	$79.84 \pm 0.032$	Weight Measurement		
Ratio of solid to liquid, 1:25	79.96±0.015	Weight Measurement		
Ratio of solid to liquid, 1:30	$78.82 \pm 0.010$	Weight Measurement		
Ratio of solid to liquid, 1:35	$78.07 \pm 0.018$	Weight Measurement		
Ratio of solid to liquid, 1:40	$78.51 \pm 0.013$	Weight Measurement		
Extraction power of 300 W	$76.70 \pm 0.014$	Weight Measurement		
Extraction power of 350 W	75.63±0.027	Weight Measurement		
Extraction power of 400 W	77.03±0.013	Weight Measurement		
Extraction power of 450 W	$79.42 \pm 0.023$	Weight Measurement		
Extraction power of 500 W	$74.71 \pm 0.011$	Weight Measurement		
Extraction time of 10 min	$73.22 \pm 0.031$	Weight Measurement		
Extraction time of 15 min	71.33±0.028	Weight Measurement		
Extraction time of 20 min	$78.97 \pm 0.016$	Weight Measurement		

Extraction time of 25 min	78.13±0.022	Weight Measurement
Extraction time of 30 min	76.85±0.017	Weight Measurement

<sup>\*</sup>Statistical processing of the experimental data given in the dissertation was carried out for three measurements of all studied properties. The final results in the tables were given in the form of  $X\pm\Delta X$ , where X is the average value. Statistical processing of experimental data was carried out using software products OriginPro v.8 and Excel with Microsoft Office v.10.

# 3. Results of Box-Behnken design arrangement, responses for protein yield of ultrasound-assisted alkaline extraction on pumpkin seed protein isolate (PSPI)

			X <sub>3</sub> :			Method
	X <sub>1</sub> :	X <sub>2</sub> :	Ratio of	Yield	Predicted	name and
Run	Ultrasonic	Ultrasonic	liquid to	(g/100	Value	number
	power (W)	time (min)	solid	g)	(g/100 g)	
			(ml/g)			
1	1	Ĩ	0	77.79	77.72	Weight
				11.15	11.12	Measurement
2	1	0	-1	78.13	77.09	Weight
_		0		70.15	17.07	Measurement
3	0	0	0	80.56	80.93	Weight
		0		00.50	00.73	Measurement
4	1	-1	0	70.59	71.72	Weight
(TOME))	1			10.59	71.72	Measurement
5	1	0	1	76.59	76.57	Weight
		0		70.55	70.57	Measurement
6	-1	-1	0	68.31	68.38	Weight
				00.51	00.50	Measurement
7	0	1	1	79.77	79.86	Weight
		1	1	12.11	75.00	Measurement
8	-1	0	1	75.32	76.36	Weight
	1		: <b>.</b>	13.32	70.50	Measurement

9	-1	0	-1	70.77	70.79	Weight Measurement
10	0	-1	-1	71.34	71.25	Weight Measurement
11	-1	1	0	75.68	74.55	Weight Measurement
12	0	1	-1	77.68	78.80	Weight Measurement
13	0	-1	1	76.37	75.25	Weight Measurement
14	0	0	0	80.95	80.93	Weight Measurement
15	0	0	0	81.29	80.93	Weight Measurement

### 3. Results of analysis of the variance (ANOVA) of the quadratic model

Source	Sum of Squares df Mean Square		F-Value	p-value Prob > F	
Model	228.95	9	25.44	16.87	0.0031
$A_1$	21.19	1	21.19	14.05	0.0133
A <sub>2</sub>	73.87	1	73.87	48.98	0.0009
A <sub>3</sub>	12.83	1	12.83	8.50	0.0332
A <sub>12</sub>	0.0072	1	0.0072	0.0048	0.9475
A <sub>13</sub>	9.27	1	9.27	6.15	0.0559
A <sub>23</sub>	2.16	1	2.16	1.43	0.2850
A <sub>11</sub>	73.58	1	73.58	48.78	0.0009
A <sub>22</sub>	42.10	1	42.10	27.91	0.0032
A <sub>33</sub>	5.92	1	5.92	3.93	0.1043
Residual	7.54	5	1.51	;	

-			
2	0.13		
14			
)		14	14

Scientific supervisor	to hom	
Ph.D., Associate Professor	Jan	Anna O. Helikh
	(signature)	
Responsible executor		
Ph.D. student	Dan Gas	Dan Gao
	(signature)	
Head of the laboratory	/数 /	
Ph.D., Associate Professor	Jonfing Korry  (signature, seator)	Jinfeng Yang
	食品与生物工程学院	
	3,1020091352	

### PROTOCOL OF EXPERIMENTAL DATA № 2 from October 10, 2020

#### 1. The functional properties of four kinds of oilseed protein isolates\*

Functional properties	PEPI	PUPI	SOPI	SUPI	Method name and number
Water- absorbing ability (g/g)	1.58±0.15	1.69±0.59	1.42±0.02	1.36±0.18	Weight measurement (According to 2.2.2)
Oil-absorbing ability (g/g)	1.00±0.037	1.34±0.0041	0.86±0.051	1.00±0.027	Weight measurement (According to 2.2.2)
Emulsifying ability (m <sup>2</sup> /g)	50.57±3.19	47.08±0.01	100.84±9.69	61.82±10.59	Spectrophotometer (According to 2.2.3)
Emulsifying Stability (min)	18.47±1.80	20.13±2.18	14.83±0.84	23.30±4.31	Spectrophotometer (According to 2.2.3)
Foaming ability (%)	18.18±0.97	3.88±1.69	7.76±2.04	9.33±1.39	Volumetric method (According to 2.2.4)
Foaming Stability (%)	52.96±5.50	20.00±1.00	32.54±17.87	72.04±5.71	Volumetric method (According to 2.2.4)
Wetting Time (s)	41.80±4.05	11.02±3.13	139.94±13.20	57.44±8.06	Calculate time (According to 2.2.5)

\*PEPI, PUPI, SOPI, SUPI are peanut protein isolate, pumpkin seed protein isolate, soybean protein isolate, and sunflower protein isolate, respectively. Statistical processing of the experimental data given in the dissertation was carried out for three measurements of all studied properties. The final results in the tables were given in the form of  $X\pm\Delta X$ , where X is the average value. Statistical processing of experimental data was carried out using software products OriginPro v.8 and Excel with Microsoft Office v.10.

Scientific supervisor	-the	
Ph.D., Associate Professor	(signature)	Anna O. Helikh
Responsible executor	(signature)	
Ph.D. student	Dan Gas	Dan Gao
Head of the laboratory	Keignature	
Ph.D., Associate Professor	Jon fand Kurney	Jinfeng Yang
	食品与生物工程学院	
	75,1020091352	

### PROTOCOL OF EXPERIMENTAL DATA № 3 from June 12, 2021

### 1. Influence pH-shifting on the functional and structural properties of pumpkin seed protein isolate\*

Indicators	Control	PSPI 2	PSPI 4	PSPI 6	PSPI 8	PSPI 10	PSPI 12	Method name and number
Hardness (g)	1215.324	1917.594	1500.934	5761.4	772.963	1145.256	2579.19	TPA texture analysis
Hardness (g)	$\pm 191.14$	±548.93	$\pm 492.20$	$\pm 113.27$	$\pm 131.90$	±586.53	$\pm 1846.15$	(According to 3.3.1)
Cohesiveness	0.636	0.68	0.611	0.753	0.73	0.807	0.554	TPA texture analysis
Conesiveness	$\pm 0.090$	$\pm 0.065$	$\pm 0.035$	±0.022	$\pm 0.081$	±0.008	$\pm 0.217$	(According to 3.3.1)
Adhesiveness	-182.069	-123.628	-100.787	-140.491	-99.134	-114.832	-153.15	TPA texture analysis
Adhesiveness	$\pm 16.398$	±23.77	$\pm 16.23$	±4.20	$\pm 47.66$	±42.09	$\pm 18.61$	(According to 3.3.1)
Water-absorbing	1.38	1.07	0.49	1.63	2.14	1.44	0.65	Weight measurement
ability (g/g)	±0.20	$\pm 0.056$	$\pm 0.16$	±0.91	$\pm 0.51$	±0.33	$\pm 0.25$	(According to 3.3.2)
Solubility	0.46	0.14	0.11	0.43	0.55	0.42	0.13	According to 3.4.1
Solubility	$\pm 0.018$	$\pm 0.032$	±0.014	±0.013	$\pm 0.0096$	±0.022	$\pm 0.013$	According to 5.4.1
Particle size of soluble protein (nm)	75.79 ±2.35	62.81 ±0.16	65.92 ±7.02	75.12 ±1.80	81.15 ±2.39	81.88 ±2.82	52.17 ±13.04	Zetasizer Nano-ZS90 (According to 3.4.2)
Zeta potential	-27.10	-20.20	-24.78	-27.35	-28.10	-29.37	-24.25	Zetasizer Nano-ZS90
(mV)	$\pm 1.00$	±3.00	±4.62	±1.10	$\pm 0.53$	±1.82	$\pm 3.02$	(According to 3.4.3)
Free sulfhydryl	3.93	2.49	2.19	6.22	5.57	5.77	2.79	Spectrophotometer
group (µmol/g)	$\pm 0.0071$	±0.012	$\pm 0.037$	±0.019	$\pm 0.051$	$\pm 0.0071$	±0.028	(According to 3.5.2)

Disulfide bond (μmol/g)	8.57 ±0.0035	9.21 ±0.0061	9.36 ±0.019	7.35 ±0.0094	7.66 ±0.026	7.57 ±0.0035	9.00 ±0.014	Spectrophotometer (According to 3.5.2)
Surface hydrophobicity	21460.71 ±952	18940.94 ±457	2957.79 ±103	23066.90 ±933	32831.03 ±669	19058.99 ±559	9967.01 ±524	Fluorescence spectrophotometer (According to 3.5.3)
Intrinsic fluorescence spectroscopy	2897 ±7	1590 ±9	739.7 ±10.7	2116 ±9	2662 ±22	1985 ±1	565.1 ±7.1	Fluorescence spectrophotometer (According to 3.5.4)
Specific surface area (m²/kg)	155.60 ±9.81	204.07 ±11.62	171.17 ±6.01	201.77 ±3.07	$213.13 \\ \pm 11.70$	188.67 ±4.07	154.60 ±2.65	BT-2001 Laser particle size analyzer (According to 3.5.5)
Emulsifying activity index (m <sup>2</sup> /g)	1.58 ±0.13	4.82 ±0.25	6.29 ±0.64	1.73 ±0.30	$1.03 \pm 0.051$	1.83 ±0.082	6.13 ±0.26	Spectrophotometer (According to 3.5.7)
Emulsifying stability index (min)	16.12 ±0.69	22.95 ±0.87	27.02 ±0.81	17.87 ±0.94	17.38 ±1.15	15.82 ±0.066	22.71 ±1.12	Spectrophotometer (According to 3.5.7)

# 2. Endothermic denaturation peak (Tp) and enthalpy change ( $\triangle$ H) of native PSPI (control) and PSPIs after pH-shifting treatment (PSPI 2, PSPI 4, PSPI 6, PSPI 8, PSPI 10, and PSPI 12) \*

Treatment	PSPI		Method name and number
	$T_p(^{\circ}C)$	∆H (J/g)	
	Peak 1	· · · · · · · · · · · · · · · · · · ·	By differential scanning
Control	87.67±0.95	1.66±0.023	calorimeter
PSPI 2	87.78±0.15	$0.13 \pm 0.12$	(According to 3.5.1)
PSPI 6	87.81±1.01	$2.87 \pm 1.62$	

PSPI 8	87.87±0.21	0.37±0.22	
PSPI 10	87.33±0.32	14.44±1.69	
•	Peak 2		
PSPI 4	97.01±2.88	3.79±0.78	
PSPI 8	98.09±1.12	0.06±0.032	
	Peak 3		
Control	104.11±0.56	0.37±0.18	
PSPI 2	102.47±0.83	0.61±0.028	

<sup>•</sup> Statistical processing of the experimental data given in the dissertation was carried out for three measurements of all studied properties. The final results in the tables were given in the form of  $X\pm\Delta X$ , where X is the average value. Statistical processing of experimental data was carried out using software products OriginPro v.8 and Excel with Microsoft Office v.10.

Scientific supervisor
Ph.D., Associate Professor

Responsible executor
Ph.D. student

Dan Gan

Dan Gao

Head of the laboratory
Ph.D., Associate Professor

Jinfeng Yang

# PROTOCOL OF EXPERIMENTAL DATA № 4 from July 21, 2021

# 1. Distributions of T2 peak area fractions of control PSPI gel and pH-shifting treated PSPI gels (PSPI 2, PSPI 4, PSPI 6, PSPI 8, PSPI 10, and PSPI 12)\*

T <sub>2</sub> peak area fractions	PSPI 2	PSPI 4	PSPI 6	Control	PSPI 8	PSPI 10	PSPI 12	Method and number
	2.06	0.81	1.46	2.07	2.69	3.03	5.13	Low-field
$T_{2b}$ (%)	±0.28	±0.28	±0.03	±0.058	±0.12	±0.046	±0.28	nuclear
	87.34	96.18	97.73	96.92	89.93	95.60	79.90	magnetic
$T_{21}$ (%)	±1.70	±3.23	±0.096	±0.060	±0.85	±1.16	±1.47	resonance
	10.57	2.06	0.81	1.00	7.38	1.40	14.98	(According
$T_{22}$ (%)	±1.89	±3.17	±0.10	±0.004	±0.73	±1.15	±1.70	to 2.2.15)

\*Statistical processing of the experimental data given in the dissertation was carried out for three measurements of all studied properties. The final results in the tables were given in the form of  $X\pm\Delta X$ , where X is the average value. Statistical processing of experimental data was carried out using software products OriginPro v.8 and Excel with Microsoft Office v.10.

Scientific supervisor
Ph.D., Associate Professor
Responsible executor
Ph.D. student
Dan Gao
Head of the laboratory
Ph.D., Associate Professor

The state of the laboratory
Ph.D., Associate Professor

The state of the laboratory
The state of the laborator

# PROTOCOL OF EXPERIMENTAL DATA $\[Mathbb{N}\]$ 5 from January 29, 2022

### 1. Results of single factor experiments of pumpkin seed meal biscuits\*

Single factor experiments	Sensory evaluation (points)	Method name and number	Hardness (g)	Method name and number
The addition ratio, 2:2:1	80.0±1.73	Organoleptic evaluation	28754.1±6870.57	TPA texture analysis
The addition ratio, 1.5:2:1.5	83.0±2.00	Organoleptic evaluation	21109.4±3873.61	TPA texture analysis
The addition ratio, 1:2:1	83.3±1.53	Organoleptic evaluation	19158.4±4453.01	TPA texture analysis
The addition ratio, 2:1:1	88.0±2.00	Organoleptic evaluation	7487.9±2684.36	TPA texture analysis
The addition ratio, 1:1:1	85.0±2.65	Organoleptic evaluation	19656.5±4386.86	TPA texture analysis
8% plant oil and 8% butter	80.0±1.00	Organoleptic evaluation	18037.5±4979.19	TPA texture analysis
6% plant oil and 10% butter	81.3±1.15	Organoleptic evaluation	12605.6±2048.41	TPA texture analysis
4% plant oil and 12% butter	84.0±1.73	Organoleptic evaluation	17909.1±3771.18	TPA texture analysis
2% plant oil and 14% butter	83.0±1.55	Organoleptic evaluation	15416.0±2643.38	TPA texture analysis
0% plant oil and 16% butter	81.0±1.73	Organoleptic evaluation	22068.6±3385.85	TPA texture analysis
15% maltitol	78.0±2.00	Organoleptic evaluation	6530.0±1032.70	TPA texture analysis
20% maltitol	85.7±1.15	Organoleptic evaluation	24134.4±888.87	TPA texture analysis
25% maltitol	86.3±1.53	Organoleptic evaluation	7961.9±1836.98	TPA texture analysis
30% maltitol	82.0±2.00	Organoleptic evaluation	18970.5±1679.19	TPA texture analysis
35% maltitol	81.0±1.00	Organoleptic evaluation	8696.1±1633.83	TPA texture analysis

### 2. Results of orthogonal test of protein isolate pumpkin seed meal biscuits $\!\!\!\!\!^*$

Nº	A	Blan k	В	С	Hardness (g)	Method name and number	Sensory score (points)	Method name and number
1	1	1	1	1	18432.49 ± 6931.48	Organoleptic evaluation	86.3 ± 1.25	TPA texture analysis
2	1	2	2	2	20711.90 ± 6769.87	Organoleptic evaluation	84 ± 1.17	TPA texture analysis
3	1	3	3	3	17691.90 ± 2643.47	Organoleptic evaluation	87.3 ± 1.16	TPA texture analysis
4	2	1	2	3	13358.10 ± 3005.57	Organoleptic evaluation	84.7 ± 1.38	TPA texture analysis
5	2	2	3	1	4925.87 ± 142.11	Organoleptic evaluation	85.3 ± 1.91	TPA texture analysis
6	2	3	1	2	12733.80 ± 2886.64	Organoleptic evaluation	84 ± 1.10	TPA texture analysis
7	3	1	3	2	25478.81 ± 4270.02	Organoleptic evaluation	86 ± 1.52	TPA texture analysis
8	3	2	1	3	19377.86 ± 4952.39	Organoleptic evaluation	87 ± 1.08	TPA texture analysis
9	3	3	2	1	20956.06 ± 2978.13	Organoleptic evaluation	88 ± 1.23	TPA texture analysis
K1	257.6	257	257.3	259.6	22=			
K2	254	256.3	256.7	254	/ <del>-</del>		- 9	
K3	261	259.3	258.6	259	×=		<b>#</b> 0	
Range R	7.0	3.0	1.9	5.6 - A C B				
	Priority							
Optima	al comb	ination			, i	$A_3C_1B_3$		

### 3. Nutritional indicators and GI value of protein isolate pumpkin seed meal biscuits\*

Indicators	Biscuits (with addition of PSM, g/100 g)	Danisa Butter Cookies (g/100 g)	Method name and number
Protein	20.4	6.2	Kjeldahl determination (GB 5009.5-2016)
Fat	18.0	24.3	Soxhlet extraction (GB 5009.6-2016)
Ash	1.8		Determination of total ash in food (GB 5009.4-2016)
Available carbohydrate	40.1		Subtraction
Dietary fiber	19.1		Determination of plant crude fiber (GB/T 5009.10-2003)
Total carbohydrate	59.2	66.2	Subtraction
Water	0.6	-	Infrared moisture analyzer
GI value	40.5± 2.56		Determination of Glycemic Index method (WS/T 652—2019)

\*Statistical processing of the experimental data given in the dissertation was carried out for three measurements of all studied properties. The final results in the tables were given in the form of  $X\pm\Delta X$ , where X is the average value. Statistical processing of experimental data was carried out using software products OriginPro v.8 and Excel with Microsoft Office v.10.

Scientific supervisor
Ph.D., Associate Professor
Responsible executor
Ph.D. student
Do Gw Dan Gao
Head of the laboratory
Ph.D., Associate Professor

The signature, scall The signature and scall The signature a

## PROTOCOL OF EXPERIMENTAL DATA № 6 from February 27, 2022

### 1. Single factor results of development of pumpkin seed protein isolate sausage\*

	Sensory	Method		Method
Indicators	score (points)	name and number	Hardness (g)	name and number
PSPI addition of 0.75		Organoleptic		TPA texture
g/100g	82.30±2.32	evaluation	5891.84±905.40	analysis
PSPI addition of 1.5	83.30±2.51	Organoleptic	5398.69±679.77	TPA texture
g/100g	65.50±2.51	evaluation	3376.07±017.11	analysis
PSPI addition of 2.25 g/100g	85.20±1.94	Organoleptic evaluation	4765.78±266.54	TPA texture analysis
PSPI addition of 3	90 (0) 2 7(	Organoleptic	1050 25 2747 00	TPA texture
g/100g	80.60±3.76	evaluation	4850.25±747.88	analysis
PSPI addition of 3.75	80.17±3.43	Organoleptic	4572.38±596.49	TPA texture
g/100g	00,17-0,10	evaluation	10 / 2.50=5 / 0.19	analysis
Lean meat addition of	79.25±2.22	Organoleptic	4119.5±693.11	TPA texture
50 g/100g		evaluation		analysis
Lean meat addition of 60 g/100g	83.25±3.40	Organoleptic evaluation	4799.54±485.44	TPA texture analysis
Lean meat addition of		Organoleptic	VOI COMME COUNTY BOD OF BORDONIC SERVICES	TPA texture
70 g/100g	88.00±2.16	evaluation	5664.73±615.06	analysis
Lean meat addition of	85.00±3.74	Organoleptic	5739.01±310.76	TPA texture
80 g/100g	83.00±3.74	evaluation	3739.01±310.70	analysis
Lean meat addition of	79.00±2.71	Organoleptic	6980.1±605.32	TPA texture
90 g/100g	79.00=2.71	evaluation	0700.1=003.52	analysis
Cooking time of 30	84.00±2.58	Organoleptic	5486.93±662.61	TPA texture
min		evaluation		analysis
Cooking time of 35	85.75±2.63	Organoleptic evaluation	5434.75±322.56	TPA texture
min Cooking time of 40		Organoleptic		analysis TPA texture
min	87.25±1.89	evaluation	6544.05±657.11	analysis
Cooking time of 45		Organoleptic		TPA texture
min	84.25±3.86	evaluation	5630.87±613.15	analysis
Cooking time of 50	83.75±3.30	Organoleptic	6405.32±778.99	TPA texture
min	63.73±3.30	evaluation	0403.32±778.99	analysis
Baking time of 1 h	87.5±1.29	Organoleptic	5016,54±305,42	TPA texture
Daking time of 1 ii	57.5-1.23	evaluation	2010.01-200.12	analysis
Baking time of 1.5 h	88.0±0.82	Organoleptic	6362.63±340.96	TPA texture
		evaluation		analysis

Baking time of 2 h	89.0±0.82	Organoleptic evaluation	5488.92±700.70	TPA texture analysis
Baking time of 2.5 h	90.5±1.29	Organoleptic evaluation	5375.24±395.92	TPA texture analysis
Baking time of 3 h	87.25±1.89	Organoleptic evaluation	6094.53±521.97	TPA texture analysis

### 2. Results of orthogonal test of pumpkin seed protein isolate sausage\*

No.	PSPI addition	Blank	Lean meat addition	Cooking time (min)	Sensory score (points)	Method name and number
1	1	1	1	1	7.5	Organoleptic evaluation
2	1	2	2	2	6.6	Organoleptic evaluation
3	1	3	3	3	8.6	Organoleptic evaluation
4	2	1	2	3	7.8	Organoleptic evaluation
5	2	2	3	1	6.6	Organoleptic evaluation
6	2	3	1	2	7.8	Organoleptic evaluation
7	3	1	3	2	6.8	Organoleptic evaluation
8	3	2	1	3	6.4	Organoleptic evaluation
9	3	3	2	1	6.0	Organoleptic evaluation
K1	22.70	22.10	21.70	20.10	<b>#</b> 0	
K2	22.20	19.60	20.40	21.20	2	
K3	19.20	22.40	22.00	22.80	<b>1</b>	
k1	7.57	7.37	7.23	6.70	9 <b>4</b> 8	
k2	7.40	6.53	6.80	7.07	€	
k3	6.40	7.47	7.33	7.60	-	
R	1.17	0.93	0.53	0.90	i <b>≡</b> ï	
	Factor Prior		ACB			
Optin	nal combina	ation		$A_1C_3B_3$		

<sup>\*</sup>Statistical processing of the experimental data given in the dissertation was carried out for three measurements of all studied properties. The final results in the tables were given in the form of  $X\pm\Delta X$ , where X is the average value. Statistical processing of experimental data was carried out using software products OriginPro v.8 and Excel with Microsoft Office v.10.

#### 3. Nutrient and cooking loss of pumpkin seed protein isolate sausage

Indicators	Sausage (With addition of PSPI)	Sausage (Without the addition of PSPI)	Method name and number
Water (g/100 g)	51.16	52.23	Infrared moisture analyzer
Ash (g/100 g)	2.26	2. 26	Determination of total ash in food (GB 5009.4-2016)
Protein (g/100 g)	15.22	14.52	Kjeldahl determination (GB 5009.5-2016)
Fat (g/100 g)	23.15	23.57	Soxhlet extraction (GB 5009.6-2016)

<sup>\*</sup>Statistical processing of the experimental data given in the dissertation was carried out for three measurements of all studied properties. The final results in the tables were given in the form of  $X\pm\Delta X$ , where X is the average value. Statistical processing of experimental data was carried out using software products OriginPro v.8 and Excel with Microsoft Office v.10.

Scientific supervisor
Ph.D., Associate Professor
Responsible executor
Ph.D. student
Don Gao
Dan Gao
Head of the laboratory
Ph.D., Associate Professor

Wisignature
Jinford
Jinfeng Yang

### 

## 1. Minerals, heavy elements, radioactive elements, and microbiological analysis of pumpkin seed meal biscuits\*

544 L W. L.	I	764.1			
Indicators	Results	Method name and number			
	Heavy	elements			
Pb (mg/kg)	0.017±0.0076	Inductively coupled Plasma Mass Spectrometry (According to 2.2.32)			
As (mg/kg)	0.021±0.011	Inductively coupled Plasma Mass Spectrometry (According to 2.2.32)			
Cd (mg/kg)	0.0021±0.0011	Inductively coupled Plasma Mass Spectrometry (According to 2.2.32)			
Hg (mg/kg)	0.0028±0.0013	Inductively coupled Plasma Mass Spectrometry (According to 2.2.32)			
Minerals					
Na (mg/100g)	320±4.69	Inductively Coupled Plasma Emission Spectroscopy (According to 2.2.32)			
P (mg/100g)	97±2.18	Inductively Coupled Plasma Emission Spectroscopy (According to 2.2.32)			
Ca (mg/100g)	356±6.91	Inductively coupled Plasma Mass Spectrometry (According to 2.2.32)			
Fe (mg/100g)	0.9±0.17	Inductively coupled Plasma Mass Spectrometry (According to 2.2.32)			
Zn (mg/100g)	0.82±0.11	Inductively coupled Plasma Mass Spectrometry (According to 2.2.32)			
Mg (mg/100g)	27±1.14	Inductively coupled Plasma Mass Spectrometry (According to 2.2.32)			
K (mg/100g)	152±1.63	Inductively coupled Plasma Mass Spectrometry (According to 2.2.32)			
Mn (mg/100g)	0.58±0.28	Inductively coupled Plasma Mass Spectrometry (According to 2.2.32)			
Cu (mg/100g)	0.026±0.0042	Inductively coupled Plasma Mass Spectrometry (According to 2.2.32)			

	Radioacti	ve elements
Cs-137	Not detected	Ammonium phosphomolybdate method (According to 2.2.32)
Sr-90	Not detected	Inductively coupled Plasma Mass Spectrometry (According to 2.2.32)
	Microbiolo	gical analysis
Total microbial population (CFU/g)	21	Spread Plate Method (According to 2.2.31)
Staphylococcus aureus count (CFU/g)	Not detected	Spread Plate Method (According to 2.2.31)

# 2. Minerals, heavy elements, radioactive elements, and microbiological analysis of pumpkin seed protein isolate sausage\* $\frac{1}{2} \left( \frac{1}{2} \right) \left( \frac{1}{2}$

Indicators	Results	Method name and number		
	N	finerals		
Na (mg/100g) 2230.1±10.54 Inductively Coupled Plasma Em Spectroscopy (According to 2.2				
P (mg/100g)	189±3.35	Inductively Coupled Plasma Emission Spectroscopy (According to 2.2.32)		
Ca (mg/100g)	17±0.82	Inductively coupled Plasma Mass Spectrometry (According to 2.2.32)		
Fe (mg/100g)	6.3±0.88	Inductively coupled Plasma Mass Spectrometry (According to 2.2.32)		
Zn (mg/100g)	6.53±0.87	Inductively coupled Plasma Mass Spectrometry (According to 2.2.32)		
Mg (mg/100g)	52±1.35	Inductively coupled Plasma Mass Spectrometry (According to 2.2.32)		
K (mg/100g)	453±7.23	Inductively coupled Plasma Mass Spectrometry (According to 2.2.32)		
Mn (mg/100g)	0.33±0.17	Inductively coupled Plasma Mass Spectrometry (According to 2.2.32)		
Cu (mg/100g)	0.018±0.0061	Inductively coupled Plasma Mass Spectrometry (According to 2.2.32)		

	Heavy	y elements		
Pb (mg/kg)	0.023±0.0093	Inductively coupled Plasma Mass Spectrometry (According to 2.2.32)		
As (mg/kg)	0.171±0.068	Inductively coupled Plasma Mass Spectrometry (According to 2.2.32)		
Cd (mg/kg)	0.013±0.091	Inductively coupled Plasma Mass Spectrometry (According to 2.2.32)		
Hg (mg/kg)	0.0041±0.0025	Inductively counled Plasma Mass		
	Radioac	tive elements		
Cs-137	Not detected	Ammonium phosphomolybdate method (According to 2.2.32)		
Sr-90	Not detected	Inductively coupled Plasma Mass Spectrometry (According to 2.2.32)		
	Microbiol	ogical analysis		
Total microbial population (CFU/g)	73	Spread Plate Method (According to 2.2.31)		
Staphylococcus aureus count (CFU/g)	Not detected	Spread Plate Method (According to 2.2.31)		

### 3. Digestive characteristics of pumpkin seed meal biscuits $^{\ast}$

Starch digestion rate	10 min	20 min	30 min	60 min	90 min	120 min	150 min	180 min	Method name and number
Control (%)	23.94± 2.79	33.58± 3.37	56.29± 3.82	62.36± 2.34	76.88± 3.47	78.21± 2.33	78.33± 3.28	78.91± 3.54	According to 2.2.33
Pumpkin seed meal biscuits (%)	6.52± 1.23	17.37± 2.22	21.45± 2.53	26.39± 3.57	38.47± 2.38	41.66± 3.59	42.12± 3.58	43.35± 2.31	According to 2.2.33

4. Digestibility of pumpkin seed protein isolate sausage\*

Indicators	Results	Method name and number	
Digestibility Gastric enzyme (%)	72.33±3.72	According to 2.2.34	
Digestibility of Gastric enzyme	84.54±1.68	According to 2.2.34	

\*Statistical processing of the experimental data given in the dissertation was carried out for three measurements of all studied properties. The final results in the tables were given in the form of  $X\pm\Delta X$ , where X is the average value. Statistical processing of experimental data was carried out using software products OriginPro v.8 and Excel with Microsoft Office v.10.

Scientific supervisor
Ph.D., Associate Professor

Responsible executor
Ph.D. student

Dan Gao

Dan Gao

Dan Gao

Dan Gao

Jinfeng Yang

Signature, sealing and se

# Addition B "Degustation certificates"

#### PROTOCOL № 7

from March 30, 2022

Meeting of the expert-tasting commission (METC) School of Food and Bioengineering, Hezhou University

Chairman of the METC Commission – Ph.D., Professor, Zhenhua Duan METC Secretary – Ph.D. student, Senior Lecturer, Dan Gao

**PRESENT:** 19 members of the commission (attendance letter attached):

#### NAME ALL MEMBERS:

Dongjian Zhu, Chunyang Han, Chunlan Chen, Nianfang Deng, Dingjin Li, Hui Nie, Mubo Song, Hanying Tan, Wei Xie, Feilong Yin, Yunfeng Liu, Yuhua Xie, Xiaomei Yang, Jinfeng Yang, Jiaya Yin, Xiaoxian Tang, Dongdi Xie, Xiaochun Li, Ni Yang.

#### PROTOCOL:

- 1. Tasting of samples of new products developed in the framework of the dissertation for the degree of Ph.D. student, Senior Lecturer, Dan Gao:
  - biscuits with pumpkin seed protein isolate;
  - sausage with pumpkin seed protein isolate;
  - pate with pumpkin seed protein isolate.

#### SPEAKERS:

**Ph.D. student, Senior Lecturer, Gao Dan:** tasting of food products made according to the technologies developed as part of the dissertation "Technology of protein isolate from pumpkin seed meal and its use in food technology." is planned. The aim of the research was to improve the quality and protein content of finished products.

We have proposed the technology of protein isolate from pumpkin seed meals using ultrasound-assisted alkaline extraction and isoelectric precipitation method. This protein isolate was used in the technology of the presented products. Pumpkin seed protein isolate has high functional and technological properties, its protein content reaches 95 %. Products using it have good organoleptic properties and high nutritional and biological value.

The developed types of food products based on the protein isolate of pumpkin seed meal are intended for dietary, children's and mass consumption.

New technologies have passed production tests at food industry enterprises of Ukraine and China.

#### The results of tasting new products:

Members of the expert tasting commissions took part in the sensory evaluation of the presented products. The results of sensory analysis were noted by experts in tasting letters. Generalized data of expert evaluation of new products are given in Attachment A.

#### HAVE APPROVED:

- 1. Recognize the feasibility of implementation new food products using pumpkin seed protein isolate.
- 2. Note the relevance of presented developments, the presence of competitive advantages over traditional counterparts (use of available raw materials, high nutritional and biological value, available price, etc.).
- 3. Recognize that the new products that were presented for tasting are characterized by high organoleptic characteristics. Taking into account the wishes of the experts, the following products should be recommended for introduction in food industry:
  - biscuits with pumpkin seed protein isolate;
    - sausage with pumpkin seed protein isolate;
  - pate with pumpkin seed protein isolate.
- 4. Introduce the results of scientific research into the educational process of Sumy National Agrarian University and Hezhou University of Food and Bioengineering.

	/ /	
Chairman of METC, Ph.D., Prof.	Showhad Duan	Zhenhua Duan
METC Secretary, Ph.D. student	定「(signature, seal) 合う 合品与生物工程学院 ののの2009	Dan Gao
	(signature)	

Attachment A Results of expert evaluation of biscuits, sausages and pate

Characteristic	Coefficient of weight	GPA
Sausag	ge with pumpkin seed protein isola	ite
Appearance	0.1	5.0
Consistence	0.3	4.6
Surface	0.1	4.9
Color	0.1	4.9
Scent	0.2	4.9
Taste	0.2	4.7
Tota	al score	4.8
Biscui	ts with pumpkin seed protein isola	ite
Appearance	0.1	5.0
Consistence	0.3	4.5
Surface	0.1	4.9
Color	0.1	4.9
Scent	0.2	4.9
Taste	0.2	4.7
Tota	al score	4.7
Pate	with pumpkin seed protein isolate	
Appearance	0.1	5.0
Consistence	0.3	4.6
Surface	0.1	4.9
Color	0.1	4.9
Scent	0.2	4.9
Taste	0.2	4.7
Tota	al score	4.8

### **Addition C**

TS 10.8-04718013-006:2022 "Pumpkin protein"



УКНД 67.080.01

#### ЗАТВЕРДЖУЮ

Ректор Сумського національного аграрного університету, академің НААН України

В.І. Ладика

2022 p.

#### БІЛОК ГАРБУЗОВИЙ

### Технічні умови ТУ У 10.8-04718013-006:2022



Вперше

Дата надання чинності 10.10, 20.22р. Чинні до 10.10, 20.24

#### **РОЗРОБЛЕНО**

К. т. н., доцент кафедри технологій та безпечності харчових продуктів СНАУ

А.О. Геліх « d5 % 08 2022 p.

Ст. викладач факультету харчових та біотехнологій університету Хечжоу,

Gao Dan Гао Дан 2022 p.

ТА СІЛЬСЬКОГО ГОСПОДАР ДІВА УКРАЇНИ ДЕРЖАВНЕ ПІДПРИЄМСТВО СУМСЬКИЙ РЕГІОНАЛЬНИЙ НАУКОВО-ВИРОБНИЧИЙ ЦЕНТР СТАНДАРТИЗАЦІЇ, МЕТРОЛОГІЇ ТА СЕРТИФІКАЦІЇ" ATT "CYMUCTAHAPTMETPOADTIS" Ідентифікаційний код 02568064 ПЕРЕВІРЕНО повідність законодавству України О <u>Сересній</u> 2020р.

Внесено до книги обліку за № 0356806

#### ТУ У 10.8-04718013-006:2022

3MICT	C.
1 Сфера застосування	3
2 Нормативні посилання	4
3 Терміни та визначення понять	6
4 Технічні вимоги	6
5 Вимоги безпеки	11
6 Вимоги охорони довкілля, утилізація	12
7 Правила приймання	12
8 Методи контролювання	12
9 Транспортування та зберігання	13
10 Гарантії виробника	14
Додаток А – Метод розрахунку поживної (харчової) цінності та енергетичної	
цінності (калорійності) у 100 г білка гарбузового	15
Додаток Б – Бібліографія	16



#### 1 СФЕРА ЗАСТОСУВАННЯ

Ці технічні умови (ТУ) поширюються на білок гарбузовий, а саме білковий ізолят у вигляді гелю, який виробляють з попередньо очищеного, частково знежиреного, висушеного та переробленого в борошно шроту насіння гарбуза харчового шляхом рН-коригуючої обробки, підданий м'якій термообробці, що призводить до утворення гелю, та порошок гарбузовий з рН-коригуючою обробкою, названий далі за текстом — білок гарбузовий.

Білок гарбузовий використовують у харчовій промисловості, м'ясопереробній, олієжировій, молокопереробній, хлібопекарській, кондитерській галузях, ресторанному господарстві тощо.

Обов'язкові вимоги до білка гарбузового, що забезпечують його безпеку для життя і здоров'я споживачів та охорони навколишнього природного середовища викладені в розділах (4-6) цих технічних умов.

Приклад позначення білка гарбузового при замовленні та в іншій документації:

Білок гарбузовий гель ТУ У10.8-04718013-006:2022.

Білок гарбузовий порошок ТУ У 10.8-04718013-006:2022.

Ці ТУ придатні для цілей сертифікації.

Право власності на ТУ належить Сумському національному аграрному університету та кафедрі харчування та біоінженерії Університету Хечжоу, Китай (Food and Bioengineering department of Hezhou University, China).

Перевірка технічних умов здійснюється не рідше одного разу на п'ять років, після надання їм чинності чи останнього перевіряння, якщо не виникає потреби перевіряти їх раніше у разі прийняття нормативно-правових актів, відповідних національних (міждержавних) стандартів та інших нормативних документів, якими регламентовано інші вимоги ніж ті, що встановлені у цих ТУ.



#### 2 НОРМАТИВНІ ПОСИЛАННЯ

В цих ТУ є посилання на наступні нормативні документи:

Закон України від 05.03.1998 р. № 187/98-ВР «Про відходи»

Закон України від 16.10.1992 р. №2707-XII «Про охорону атмосферного повітря»

Закон України від 14.01.2001р. №1393-XIV «Про вилучення з обігу, переробку, утилізацію, знищення або подальше використання неякісної та небезпечної продукції»

Закон України від 06.12.2018 р. № 2639-VIII «Про інформацію для споживачів щодо харчових продуктів»

ДСТУ 3147-95 Коди та кодування інформації. Штрихове кодування. Маркування об'єктів ідентифікації. Формат та розташування штрихкодових позначок EAN на тарі та пакуванні товарної продукції. Загальні вимоги

ДСТУ 3273-95 Безпечність промислових підприємств. Загальні положення та вимоги

ДСТУ 4595:2006 Білок соєвий. Технічні умови

ДСТУ 7169:2010 Корми, комбікорми, комбікормова сировина. Методи визначення вмісту азоту і сирого протеїну

ДСТУ 7237:2011 Система стандартів безпеки праці. Електробезпека. Загальні вимоги та номенклатура видів захисту

ДСТУ 7239:2011 ССБП. Засоби індивідуального захисту. Загальні вимоги та класифікація

ДСТУ 7458:2013 Продукти білкові рослинного походження. Макухи та шроти. Метод визначення вмісту жиру

ДСТУ 7621:2014 Продукти білкові рослинного походження. Макухи та шроти. Метод визначення вмісту вологи та летких речовин

ДСТУ 7670:2014 Сировина і продукти харчові. Готування проб. Мінералізація для визначення вмісту токсичних елементів

ДСТУ 7963:2015 Продукти харчові. Готування проб для мікробіологічних аналізів

ДСТУ 8051:2015 Продукти харчові. Методи відбирання проб для мікробіологічних аналізів

ДСТУ 8446:2015 продукти харчові. Методи визначення кількості мезофільних аеробних та факультативно анаеробних мікроорганізмів

ДСТУ 8447:2015 Продукти харчові. Метод визначення дріжджів і пліснявих грибів

ДСТУ 8828:2019 Пожежна безпека. Загальні положення

ДСТУ 9027:2020 Системи управління якістю. Настанови щодо вхідного контролю продукції

ДСТУ 9173:2022 Макухи, шроти і гірчичний порощок. Методи визначення



кольору, запаху, кількості темних включень та дрібних домішок

ДСТУ 9174:2022 Макухи, шроти і гірчичний порошок. Метод визначення золи ДСТУ ISO 5984:2004 (ISO 5984:2002, IDT) Корми для тварин. Визначення вмісту сирої золи

ДСТУ prEN 1672-1-2001 Обладнання для харчової промисловості. Вимоги щодо безпеки і гігієни. Основні положення. Частина 1. Вимоги щодо безпеки

ДСТУ EN 1672-2:2018 Устаткування для харчової промисловості. Основні принципи. Частина 2. Гігієнічні вимоги

ДСТУ EN 765:2005 (EN 765:1994, IDT) Мішки для транспортування продовольства. Мішки з поліолефінового тканого матеріалу, крім поліпропіленового

ДСТУ EN 767:2005 (EN 767:1994, IDT) Мішки для транспортування продовольства. Мішки з джуто-поліолефінового тканого матеріалу

ДСТУ EN 769:2005 (EN 769:1994, IDT) Мішки для транспортування продовольства. Мішки з бавовняно-поліолефінового тканого матеріалу

ДСТУ EN 12824:2004 Мікробіологія харчових продуктів і кормів для тварин. Горизонтальний метод виявлення Salmonella

ДСТУ OIML R 87:2017 Кількість фасованого товару в упаковках

ДСТУ Б А.3.2-12:2009 Система стандартів безпеки праці. Системи вентиляційні. Загальні вимоги

ГОСТ 30178-96 Сировина і продукти харчові. Атомно-абсорбційний метод визначення токсичних елементів

ГОСТ 30518-97 Продукты пищевые. Методы выявления и определения количества бактерий группы кишечных палочек (колиформных бактерий)

 $\Gamma$ Н 6.6.1.1-130-2006 Допустимі рівні вмісту радіонуклідів  $^{137}$ Cs та  $^{90}$ Sr у продуктах харчування та питній воді. Державні гігієнічні нормативи

ДСанПіН 8.8.1.2.3.4-000-2001 Допустимі дози, концентрації, кількості та рівні вмісту пестицидів у сільськогосподарській сировині, харчових продуктах, повітрі робочої зони, атмосферному повітрі, воді водоймищ, грунті

ДСанПіН 2.2.4-171-10 Гігієнічні вимоги до води питної, призначені для споживання людиною

НПАОП 0.00-7.14-17 Вимоги безпеки та захисту здоров'я під час використання виробничого обладнання працівниками

НПАОП 0.00-7.17-18 Мінімальні вимоги безпеки і охорони здоров'я при використанні працівниками засобів індивідуального захисту на робочому місці

ДБН В.2.5-28:2018 Природне і штучне освітлення

ДБН В.2.5-67:2013 Опалення, вентиляція та кондиціонування

ДСН 3.3.6.037-99 Державні санітарні норми виробничого шуму, ультразвуку та інфразвуку

ДСН 3.3.6.039-99 Державні санітарні норми виробничої загальної та локальної вібрації

ДП "СУМИСТАНДАРТМЕТРОЛОГІЯ"

ПЕРЕВІРЕНО

5

ДСН 3.3.6.042-99 Державні санітарні норми мікроклімату виробничих приміщень

MP 4.4.4-108-2004 Методичні рекомендації. Періодичність контролю продовольчої сировини та харчових продуктів за показниками безпеки

Постанова КМУ від 25.03.1999 №465 Правила охорони поверхневих вод від забруднення зворотними водами

Наказ МОЗ України № 52 від 14.01.2020 Про затвердження гігієнічних регламентів допустимого вмісту хімічних і біологічних речовин в атмосферному повітрі населених місць

Наказ МОЗ України № 145 від 17.03.2011 Про затвердження Державних санітарних норм та правил утримання територій населених місць

Наказ МОЗ України № 150 від 21.02.2013 Про внесення змін до наказу Міністерства охорони здоров'я України від 23 липня 2002 року № 280

Наказ МОЗ України № 280 від 23.07.2002 Щодо організації проведення обов'язкових профілактичних медичних оглядів працівників окремих професій, виробництв і організацій, діяльність яких пов'язана з обслуговуванням населення і може призвести до поширення інфекційних хвороб

Наказ МОЗ України №368 від 13.05.2013 Про затвердження Державних гігієнічних правил і норм «Регламент максимальних рівнів окремих забруднюючих речовин у харчових продуктах»

Наказ МОЗ України № 548 від 19.07. 2012 Про затвердження мікробіологічних критеріїв для встановлення показників безпечності харчових продуктів

#### 3 ТЕРМІНИ ТА ВИЗНАЧЕННЯ ПОНЯТЬ

3.1 В цих технічних умовах використано термін

Ізолят білка із шроту насіння гарбуза - ізолят, який виробляють з попередньо очищеного, частково знежиреного, висушеного та переробленого в борошно шроту насіння гарбуза харчового шляхом рН-коригуючої обробки, підданий м'якій термообробці, що призводить до утворення гелю.

#### 4 ТЕХНІЧНІ ВИМОГИ

- **4.1** Білок гарбузовий повинен відповідати вимогам цих технічних умов і вироблятися відповідно до вимог технологічної інструкції з дотриманням санітарних правил і норм, затверджених на підприємстві в установленому порядку.
  - 4.2 Класифікація білка гарбузового:

за способом одержання:

- з рН-коригуючою обробкою у вигляді порошку;
- з рН-коригуючою обробкою та підданий м'якій термообробці, у вигляді гелю;



#### за призначенням:

- в якості білкової добавки до харчових продуктів;
- в якості замінника традиційної харчової сировини.
- 4.3 Білок гарбузовий залежно від масової частки протеїну виробляють:
- порошок, з масовою часткою протеїну від 80 % до 95 %;
- гель, з масовою часткою протеїну від 35 % до 55 %.
- 4.4 Основні показники і характеристики
- **4.4.1** За органолептичними показниками білок гарбузовий повинен відповідати вимогам, наведеним в таблиці 1.

Таблиця 1 - Органолептичні показники білка гарбузова

Найменування	Характеристика			
показників	Гель	Порошок		
1 Смак і запах	Чистий без сторонніх присмаків і запахів			
2 Колір	Від прозорого до світло-білого кольору			
3 Консистенція	Однорідний гель без осаду	Порошок без сторонніх домішок		

**4.4.2** За фізико - хімічними показниками білок гарбузовий повинен відповідати вимогам, наведеним у таблиці 2.

Таблиця 2 - Фізико - хімічні показники білка гарбузового

Найменування показників	Нормован	і значення	Методи контролювання	
паименування показників	порошок	гель		
Масова частка вологи та летких речовин, %, не більше ніж	15,0	65,0	ДСТУ 7621	
Масова частка протеїну у перерахунку на абсолютно суху речовину, %	80,0-95,0	-	ДСТУ 7169	
Масова частка протеїну розчинного у воді, %	-	35,0-55,0	ДСТУ 7169	
Масова частка загальної золи у перерахунку на абсолютно суху речовину, %, не більше ніж	5,0	5,0	ДСТУ ISO 5984 ДСТУ 9174	
рН 10 % водної суспензії	6,5-7,5		ДСТУ 4595	

**4.4.3** За вмістом токсичних елементів і мікотоксинів білок гарбузовий повинен відповідати вимогам, наведеним в таблиці 3.



Таблиця 3 – Вміст токсичних елементів і мікотоксинів білка гарбузового

Допустимі рівні	Методи випробовування	
ьше ніж:		
0,03	Згідно з ГОСТ 26927 [1]	
1,0	Згідно з ГОСТ 26930[2]	
20.0	Згідно з ГОСТ 26931[3],	
30,0	ГОСТ 30178	
1.0	Згідно з ГОСТ 26932[4],	
1,0	ГОСТ 30178	
0.1	Згідно з ГОСТ 26933[5],	
0,1	ГОСТ 30178	
ж:		
0.005	Згідно з MУ 4082 [8], MP 2273 [6],	
0,003	ДСТУ EN 12955	
1,0	Згідно з МР 2964 [7]	
	рівні 6,005 рівні 6,005	

**4.4.4** За показниками безпеки (мікробіологічні показники) білок гарбузовий повинен відповідати вимогам, зазначеним у таблиці 4.

Таблиця 4 - Мікробіологічні показники білка гарбузового

Назва показників	Допустимі рівні	Методи випробовування
Кількість мезофільних аеробних і факультативно-анаеробних мікроорганізмів, КУО в 1 г, не більше ніж	5-104	Згідно з ДСТУ 8446
Бактерії групи кишкових паличок (коліформи) в 0,1 г	Не дозволено	Згідно з ГОСТ 30518
Патогенні мікроорганізми, зокрема бактерії роду Salmonella, в 25 г	Не дозволено	Згідно з ДСТУ EN 12824
Плісняві гриби, КУО в 1 г, не більше ніж	1-102	Згідно з ДСТУ 8447
Дріжджі, КУО в 1 г, не більше ніж	1-102	Згідно з ДСТУ 8447

### 4.5 Вимоги до сировини та матеріалів

Для виробництва білка гарбузового використовують наступну сировину:

- шрот насіння гарбузового харчового згідно з чинною НД.

Під час виробництва білка гарбузового застосовують сировину, в якій вміст токсичних елементів, мікотоксинів та пестицидів не перевищує допустимі рівні,



встановлені згідно з Наказом МОЗ України від 19.07.2017 № 548, Наказом МОЗ України від 13.05. 2013 № 368 та ДСанПіН 8.8.1.2.3.4-000.

Заборонено використовувати модифіковану сировину, яка не дозволена для використовування центральним органом виконавчої влади у сфері охорони здоров'я.

Вміст радіонуклідів <sup>137</sup>Cs і <sup>90</sup>Sr у шроті насіння гарбузового харчового не повинен перевищувати встановлені допустимі рівні згідно з ГН 6.6.1.1-130.

За мікробіологічними показниками сировина не повинна перевищувати допустимі рівні, які встановлено згідно Наказу МОЗ України від 19.07.2017 № 548.

- **4.5.2** Обладнання та матеріали, що застосовуються при виробництві білка гарбузового, повинні відповідати чинним нормативним документам та бути дозволені для використання центральним органом виконавчої влади, що забезпечує формування державної політики у сфері охорони здоров'я для даних цілей.
- **4.5.3** Вхідний контроль сировини, матеріалів проводять у відповідності з ДСТУ 9027 та порядком, встановленим виробником.
- **4.5.4** Кожна партія сировини та матеріалів повинна супроводжуватись документом про якість встановленої форми та повинна бути дозволена для використання центральним органом виконавчої влади України у сфері охорони здоров'я.
  - 4.6 Пакування
  - 4.6.1 Білок гарбузовий харчовий випускають фасованим.
  - 4.6.1.1 Білок гарбузовий порошок фасують масою нетто від 1 кг 30 кг у:
  - мішки паперові марки ПМ згідно з ДСТУ EN 769;
- мішки паперові марки НМ згідно з ДСТУ EN 767, з полієтиленовими мішками-укладками згідно з ДСТУ EN 765.

Мішки з білком гарбузовим зашивають машинним способом нитками лляними, бавовняними, синтетичними згідно з діючими НД, які забезпечують міцність зшивання.

Мішки для фасування білка гарбузового дозволено використовувати тільки чисті, сухі, вони не повинні мати сторонніх запахів, не бути зараженими шкідниками хлібних запасів.

- 4.6.1.2 Білок гарбузовий гель фасують масою нетто від 5 кг до 200 кг в:
- паперові пакети з комбінованого матеріалу типу «Pure-Pak»;
- пакети з полієтиленової плівки з внутрішнім чорним покриттям згідно діючої
   НД;
  - бочки харчові пластикові «Euro Plast».
- 4.6.2 Дозволено використання інших видів тари і пакування, як вітчизняного, так і імпортного виробництва, дозволених до використання центральним органом виконавчої влади у сфері охорони здоров'я для контакту з харчовими продуктами і, які забезпечують збереженість і якість продукції під час транспортування і зберігання.

- 4.6.3 Фасування білка гарбузового здійснюється за масою.
- **4.6.4** Значення допустимих мінусових відхилень маси білка гарбузового в пакувальній одиниці згідно з ДСТУ OIML R 87 та повинні відповідати вимогам, наведеним в таблиці 5.

**Таблиця** 5 – Допустимі мінусові відхилення маси білка гарбузового в пакувальній одиниці

Маса продукту фасованого, г, см <sup>3</sup>	Допустиме від'ємне відхилення маси продукту в пакувальній одиниці		
	%	Г	
Понад 500 г до 1000 г включно	-	15	
Понад 1000 г до 10000 г включно	1,5	_	
Понад 10000 г до 15000 г включно	-	150,0	
Більше 15000 г	1,0	-	

- **4.6.5** Додаткові вимоги до пакування, що не суперечать законодавству України, можуть бути передбачені договором або контрактом.
  - 4.7 Маркування
- **4.7.1** Маркування повинно відповідати вимогам Закону України від 06.12.2018 №2639-VIII та цих ТУ.
- **4.7.2** На кожну одиницю споживчої тари з фасованим білком гарбузовим наносять маркування, яке повинно містити наступну інформацію:
  - назву продукту (власну назву за наявності);
- вид білка гарбузового (з рН-коригуючою обробкою у вигляді порошку; з рН-коригуючою обробкою та підданий м'якій термообробці, у вигляді гелю) із зазначенням масової частки протеїну;
  - назву виробника, його юридичну адресу та адресу потужності виробництва;
  - торгівельну марку виробника (за наявності);
- масу нетто одиниці пакування, кг або об'єм, дм<sup>3</sup> та допустиме мінусове відхилення;
- харчову (поживну) цінність (вміст білків а вологи) та енергетичну цінність (калорійність) (у кДж і/або ккал) на 100 г продукту (розраховує виробник відповідно до рецептури за формулою, наведеною в додатку А);
- кінцеву дату споживання «Вжити до» або дату виробництва (число, місяць, рік) та строк придатності;
  - умови зберігання;
  - номер партії;
  - позначення цих ТУ;
  - штриховий код EAN згідно з ДСТУ 3147.



### 5 ВИМОГИ БЕЗПЕКИ

- **5.1** Під час виготовлення білка гарбузового необхідно дотримуватись вимог щодо безпеки, що встановлені технологічною інструкцією, розробленою та затвердженою у встановленому порядку.
  - 5.2 Виробничі приміщення повинні відповідати діючим санітарним нормам.
- **5.3** Технологічне обладнання повинно відповідати вимогам ДСТУ 3273, ДСТУ EN 1672-2, ДСТУ prEN 1672-1.

Технологічне обладнання та устаткування повинні очищуватись та дезінфікуватись за допомогою мийних та дезінфекційних засобів, дозволених для використання центральним органом виконавчої влади, що забезпечує формування державної політики у сфері охорони здоров'я, та за наявності свідоцтва про реєстрацію згідно з інструкцією з використання та графіком, розробленими і затвердженими у встановленому порядку.

Після проведеної дезінфекції проводиться промивка обладнання питною водою до відсутності залишків дезінфікуючого розчину. Проби для аналізів відбирають з останніх промивних вод.

- **5.4** При виявленні бактеріального забруднення, проводять позачергову дезінфекцію. Для дезінфекції слід використовувати тільки свіжовиготовлені розчини згідно з інструкцією з використання.
  - 5.5 Робочі місця повинні бути забезпечені інструкціями з техніки безпеки.
- **5.6** Працівники повинні бути забезпечені спецодягом згідно чинного законодавства та ДСТУ 7239, НПАОП 0.00-7.14, НПАОП 0.00-7.17.
- 5.7 Персонал, що працює на виробництві білка гарбузового, повинен проходити періодичні медичні огляди згідно з Наказом МОЗ України від 23.07.2002 № 280 та Наказом МОЗ України від 21.02.2013 № 150.
- **5.8** Виробничі приміщення повинні бути обладнані припливно-витяжною вентиляцією та опалюванням згідно з ДСТУ Б А.3.2-12, ДБН В.2.5-67.
- **5.9** Повітря робочої зони та мікроклімат виробничих приміщень повинні відповідати вимогам ДСН 3.3.6.042.
- **5.10** Штучне та природнє освітлення виробничих приміщень повинно відповідати вимогам ДБН В.2.5-28.
- **5.11** В процесі виробництва необхідно дотримуватись вимог електробезпеки згідно ДСТУ 7237.
- **5.12** Пожежна безпека на підприємстві повинна відповідати вимогам ДСТУ 8828.
- **5.13** Виробничі приміщення повинні бути забезпечені питною водою згідно з ДСанПіН 2.2.4-171.
- **5.14** Рівень шуму та вібрації у виробничому приміщенні під час роботи виробничого обладнання не повинен перевищувати рівні, встановлені ДСН 3.3.6.037, ДСН 3.3.6.039.

ДП "СУМИСТАНДАРТМЕТРОЛОГІЯ"

**ПЕРЕВІРЕНО** 

### 6 ВИМОГИ ОХОРОНИ ДОВКІЛЛЯ, УТИЛІЗАЦІЯ

- **6.1** Охорона атмосферного повітря від забруднення повинна здійснюватися відповідно до вимог Закону України № 2707-ХІІ від 16.10.1992 р., Наказу МОЗ України № 52 від 14.01.2020 р.
- 6.2 Переробку, утилізацію, знищення неякісної продукції здійснюють згідно з вимогами, що встановлені Законом України № 1393-XIV від 14.01.2000, Закону України №187/98-ВР від 05.03.1998.
- 6.3 Охорона грунту від забруднення побутовими та промисловими відходами повинна здійснюватися згідно з вимогами Наказу МОЗ України від 17.03.2011 № 145.
- **6.4** Охорона поверхневих вод від забруднення повинна здійснюватися відповідно до вимог Постанови КМУ № 465 від 25.03.1999 р.

### 7 ПРАВИЛА ПРИЙМАННЯ

7.1 Білок гарбузовий приймають партіями.

Партія – будь-яка кількість білка гарбузового з однією назвою, виготовлена з однакової сировини на одному і тому ж обладнанні протягом одного технологічного циклу та оформлена одним документом про якість.

Правила приймання, визначання партії, об'єм вибірки та відбирання проб згідно з ДСТУ 8051, ДСТУ 7963, ДСТУ 4595, ДСТУ 7670.

- 7.2 Для визначання відповідності якості білка гарбузового вимогам цих ТУ підприємство-виробник проводить приймальне і періодичне контролювання.
- 7.3 Приймальне контролювання кожної партії проводять за органолептичними, фізико-хімічними показниками, масою нетто або об'ємом пакувальної одиниці, якістю пакування і маркування.
  - 7.4 Періодичність контролю за показниками безпеки згідно МР 4.4.4-108.
- 7.5 У разі отримання незадовільних результатів контролювання хоча б за одним із показників (органолептичних, фізико-хімічних, мікробіологічних і безпечності) проводять повторне аналізування подвійної кількості вибірки білка гарбузового від тієї самої партії.
- 7.6 Незадовільні результати після повторного контролювання поширюють на всю партію і партію бракують.

### 8 МЕТОДИ КОНТРОЛЮВАННЯ

- **8.1** Зовнішній вигляд, правильність пакування і маркування на відповідність вимогам цих ТУ контролюють візуально.
  - 8.2 Визначають органолептичні показники (запах, колір) згідно з ДСТУ 9173.
  - 8.2.1 Визначання смаку
  - 8.2.1.1 Засоби вимірювання, матеріали



Ваги лабораторні - згідно з діючою НД, 3-го класу точності з найбільшою межею зважування до 1 кг.

Вода дистильована - згідно з діючою НД.

8.2.1.2 Правила проведення випробовування

Наважку білка гарбузового ( $10\pm1$ ) г, злегка зволожують дистильованою водою. Смак визначають органолептичного оцінювання.

- 8.3 Визначають масову частку вологи згідно з ДСТУ 7621.
- 8.4 Визначають масову частку сирого протеїну згідно з ДСТУ 7458.
- **8.6** Визначають масову частку протеїну, розчинного у воді згідно з ДСТУ 7169.
- **8.7** Визначають масову частку загальної золи згідно з ДСТУ9174, ДСТУ ISO 5984.
  - 8.8 Визначають рН 10 % водної суспензії згідно з ДСТУ 4595.
  - 8.9 Визначання сторонніх домішок

Відібрану пробу розкладають тонким шаром на дошці та прискіпливо переглядають на наявність сторонніх домішок.

У разі наявності сторонніх домішок продукцію бракують.

- **8.10** Визначають вміст токсичних елементів згідно з ГОСТ 26927 [1], ГОСТ 26930[2], ГОСТ 26931[3], ГОСТ 26932[4], ГОСТ 26933[5], ГОСТ 30178.
- **8.11** Вміст мікотоксинів визначають згідно з МУ 4082 [6], МР 2273 [6], ДСТУ EN 12955, МР 2964 [7].
- **8.12** Вміст радіонуклідів визначають згідно з ГН 6.6.1.1-130 МУ 5778 [9] та МУ 5779 [10] та іншими методиками, затвердженими у встановленому порядку.
- **8.13** Контролювання вмісту пестицидів здійснюється згідно з ДСанПіН 8.8.1.2.3.4-000.
  - 8.14 Визначають плісняві гриби та дріжджі згідно з ДСТУ 8447.
  - 8.15 Визначають бактерії роду Salmonella згідно з ДСТУ EN 12824.
- **8.16** Масу білка у споживчій упаковці контролюють за допомогою ваг для статичного зважування згідно чинних НД.

### 9 ТРАНСПОРТУВАННЯ ТА ЗБЕРІГАННЯ

- **9.1** Білок гарбузовий транспортують усіма видами транспорту згідно з правилами перевезення вантажу, чинними на відповідному виді транспорту. Транспортні засоби повинні бути криті, чисті, сухі, без стороннього запаху.
- **9.2** Білок гарбузовий порошок, пакований у мішки, дозволено транспортувати транспортними пакетами із застосуванням піддонів згідно з діючою НД, або універсальним металевим контейнером згідно з діючою НД.
- 9.3 Білок гарбузовий гель, пакований у паперові пакети з комбінованого матеріалу типу «Риге-Рак», пакети з поліетиленової плівки з внутрішнім чорним покриттям дозволено транспортувати покриттям дозволено покрит

АП "СУМИСТАНДАРТМЕТРОЛОГІЯ" ПЕРЕВІРЕНО застосуванням піддонів згідно діючої НД, або універсальним металевим контейнером згідно з діючою НД.

- 9.4 Зберігають білок гарбузовий порошок у чистих сухих приміщеннях, не заражених шкідниками хлібних запасів, добре вентильованих або обладнаних припливно-витяжною вентиляцією, захищених віддії прямого сонячного світла та джерел тепла, за температури (20-30) °С та відносної вологості повітря не більше ніж 75 %. Термін зберігання не більше 3 роки. Якщо термін зберігання білка гарбузового перевищує 1 рік, то перед використанням у харчовому виробництві необхідно перевірити його на відповідність органолептичним та мікробіологічним нормам.
- 9.5 Білок гарбузовий гель зберігають у чистих сухих приміщеннях, добре вентильованих або обладнаних припливно-витяжною вентиляцією, захищених від дії прямого сонячного світла та джерел тепла за температури (0-18) °С та відносній вологості повітря не більше 75 %. Термін зберігання не більше 180 діб. Якщо термін зберігання білка гарбузового гелю перевищує 30 діб, то перед використанням у харчовому виробництві необхідно перевірити його на відповідність органолептичним та мікробіологічним нормам.
- 9.6 Строки придатності білка гарбузового може встановлювати виробник (залежно від якості сировини, рівня технології виробництва, характеристик обладнання, умов фасування та властивостей пакувальних матеріалів) за умов відповідності білка гарбузового вимогам цих ТУ та погодження цих строків з центральним органом виконавчої влади з питань охорони здоров'я.

### 10 ГАРАНТІЇ ВИРОБНИКА

- **10.1** Виробник гарантує відповідність безпечності та якості білка гарбузового вимогам цих технічних умов при дотриманні умов зберігання і транспортування.
  - 10.2 Гарантійний термін зберігання продуктів встановлено в 9.4, 9.5 цих ТУ.



### ДОДАТОК А

(довідковий)

### МЕТОД РОЗРАХУНКУ ПОЖИВНОЇ (ХАРЧОВОЇ) ЦІННОСТІ ТА ЕНЕРГЕТИЧНОЇ ЦІННОСТІ (КАЛОРІЙНОСТІ) У 100 Г БІЛКА ГАРБУЗОВОГО

Для розрахунку енергетичної цінності білка гарбузового застосовують наступну формулу:

$$E = k_{\delta} \times (M_{\delta} + M_{\mathrm{B}}) + k_{\delta} \times M_{\mathrm{x}}, \tag{1}$$

де E - енергетична цінність, ккал;

 $M_{\rm 5}$  - масова частка білка, г/100 г продукту;

 $M_{\rm B}$  - масова частка вуглеводів, г/100 г продукту;

 $M_{\rm ж}$  - масова частка жиру, г/100 г продукту;

 $k_6 = 4$  – коефіцієнт енергетичної цінності 1 г білка чи 1 г вуглеводів у продукті, ккал/г;

 $k_{\text{ж}} = 9$  - коефіцієнт енергетичної цінності 1 г жиру в продукті, ккал/г.

Якщо потрібно подати енергетичну цінність (калорійність) у вигляді поживної (харчової) цінності, у кілоджоулях, використовують наступний перерахунок:

1 ккал = 4,184 кДж



### ДОДАТОК Б (довідковий)

### БІБЛІОГРАФІЯ

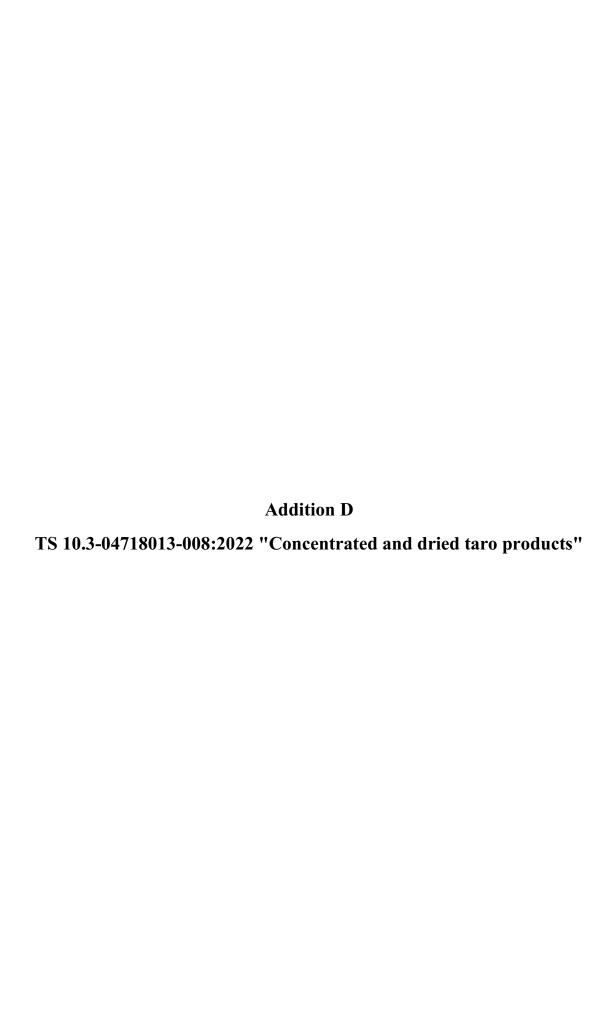
- 1 ГОСТ 26927-86 Сырье и продукты пищевые. Метод определения ртути (Сировина і продукти харчові. Метод визначання ртуті)
- 2 ГОСТ 26930-86 Сырье и продукты пищевые. Метод определения мышьяка (Сировина і продукти харчові. Метод визначення миш'яку)
- 3 ГОСТ 26931-86 Сырье и продукты пищевые. Метод определения меди (Сировина і продукти харчові. Метод визначення міді)
- 4 ГОСТ 26932-86 Сырье и продукты пищевые. Методы определения свинца (Сировина і продукти харчові. Методи визначання свинцю)
- 5 ГОСТ 26933-86 Сырье и продукты пищевые. Метод определения кадмия (Сировина і продукти харчові. Метод визначення кадмію)
- 6 MP 2273-80 Методические рекомендации по обнаружению, идентификации и определению содержания афлатоксинов в пищевых продуктах (Методичні рекомендації щодо виявлення, ідентифікації і визначання вмісту афлатоксинів у харчових продуктах), затверджені МОЗ СРСР 10.12.1980 р.
- 7 MP 2964-84 Методические рекомендации по обнаружению, идентификации и определению содержания зеараленона в пищевых продуктах (Методичні рекомендації щодо виявлення, ідентифікації і визначання вмісту зеароленону в харчових продуктах), затверджені МОЗ СРСР 23.01.1984 р. 5
- 8 МУ 4082-86 Методические указания по обнаружению, идентификации и определению содержания афлатоксинов в продовольственном сырье и пищевых продуктах с помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии (Методичні вказівки щодо виявлення, ідентифікації і визначання вмісту афлатоксинів у продовольчій сировині і харчових продуктах за допомогою високо-ефективної рідинної хроматографії), затверджені МОЗ СРСР 20.03.86 р.
- 9 МУ 5778-91 Стронций-90. Определение в пищевых продуктах (Стронцій-90. Визначанняв харчових продуктах)
- 10 МУ 5779-91 Цезий-137. Определение в пищевых продуктах (Цезій-137. Визначання в харчових продуктах), затверджені МОЗ СРСР 04.01.1991 р.



### АРКУШ ОБЛІКУ ЗМІН ТЕХНІЧНИХ УМОВ

№ Зм.		Номера листів		Номер документа	Підпис	Дата	Термін введення змін	
	Змінених	Нових	Скасованих	Замінених				





погоджую

Директор

Андрій

ФОП (Філон А.М.»

А.М. Філон

07 2023 p.

ЗАТВЕРДЖУЮ

Ректор Сумського національного

аграрного університету,

академік НААН України ВА Ладика

3MIHA №1

до ТУ У 10.3-04718013-008:2022

### ПРОДУКТИ ІЗ ТАРО КОНЦЕНТРОВАНІ ТА СУШЕНІ

Технічні умови

Дата надання чинності\_ 11.08. 2023

Чинні до

11.08, 2028



К.т.н, доцент кафедри технологій та безпечності харчових продуктів СНАУ

А.О. Геліх «<u>19</u>» 07 2023 p.

Ст. викладач факультету харчових та біотехнологій університету Хечжоу,

**Китай**, Liu Yan JIO SHIB

« 20 » 07 2023 p.

Ст. викладач факультету харчових та біотехнологій університету Хечжоу,

Китай

**D** СтГао Дан

« H » O7 2023 p.

КИ, ТОРГІВЛІ СТВА УКРАЇНИ ТА СІЛЬСЬКОГО ГОСІНІ СТІВА ТА СІЛЬСЬКОГО ГОСІНІ СТІВА ДЕРЖАВНЕ ПІДПРИЄМСТВО СУМСЬКИЙ РЕГІОНАЛЬНИЙ НАУКОВО-ВИРОБНИЧИЙ ЦЕНТР СТАНДАРТИЗАЦІЇ, МЕТРОЛОГІЇ ТА СЕРТИФІКАЦІЇ\* ДП "СУМИСТАНДАРТМЕТРОЛОГІЯ" Ідентифікаційний код 02568064 ПЕРЕВІРЕНО

на відповідність законодавству України

### ТУ У 10.3-04718013-008:2022

ЗМІСТ	C.
1 Сфера застосування	3
2 Нормативні посилання	4
3 Терміни та визначення понять	7
4 Технічні вимоги	7
5 Вимоги безпеки	11
6 Вимоги охорони довкілля, утилізація	12
7 Правила приймання	13
8 Методи контролювання	13
9 Транспортування та зберігання	14
10 Гарантії виробника	15
Додаток А – Метод розрахунку поживної (харчової) цінності та енергетичної	
цінності (калорійності) у 100 г продуктів концентрованих та сушених із таро	
(пюре, паста, порошок)	16
Додаток Б – Бібліографія	17



### 1 СФЕРА ЗАСТОСУВАННЯ

Ці технічні умови (ТУ) поширюються на концентровані та сушені продукти із таро (пюре, пасту, порошок), названі далі за текстом – продукти.

Продукти із таро концентровані (пюре, пасту) виготовляють з цілих або подрібнених, грубопротертих чи протертих коренеплодів таро або відновленням порошку таро; порошок - з попередньо підготовлених, висушених та подрібнених до заданого розміру частинок коренеплодів таро.

Продукти із таро концентровані та сушені використовують у харчовій промисловості, м'ясопереробній, хлібопекарській, кондитерській галузях, ресторанному господарстві тощо.

Обов'язкові вимоги до концентрованих та сушених продуктів із таро, що забезпечують їх безпеку для життя і здоров'я споживачів та охорони навколишнього природного середовища викладені в розділах (4 - 6) цих технічних умов.

Приклад позначення концентровані та сушені продукти із таро при замовленні та в іншій документації:

Пюре таро ТУ У10.8-04718013-007:2022.

Паста таро ТУ У 10.8-04718013-007:2022.

Порошок таро ТУ У 10.8-04718013-007:2022.

Ці ТУ придатні для цілей сертифікації.

Право власності на ТУ належить Сумському національному аграрному університету та кафедрі харчування та біоінженерії Університету Хечжоу, Китай (Food and Bioengineering department of Hezhou University, China).

Перевірка технічних умов здійснюється не рідше одного разу на п'ять років, після надання їм чинності чи останнього перевіряння, якщо не виникає потреби перевіряти їх раніше у разі прийняття нормативно-правових актів, відповідних національних (міждержавних) стандартів та інших нормативних документів, якими регламентовано інші вимоги ніж ті, що встановлені у цих ТУ.



### 2 НОРМАТИВНІ ПОСИЛАННЯ

В цих ТУ є посилання на наступні нормативні документи:

Закон України від 05.03.1998 р. № 187/98-ВР «Про відходи»

Закон України від 16.10.1992 р. №2707-XII «Про охорону атмосферного повітря»

Закон України від 14.01.2001р. №1393-XIV «Про вилучення з обігу, переробку, утилізацію, знищення або подальше використання неякісної та небезпечної продукції»

Закон України від 06.12.2018 р. № 2639-VIII «Про інформацію для споживачів щодо харчових продуктів»

ДСТУ ISO 6561:2004 Фрукти, овочі та продукти перероблення. Визначання вмісту кадмію. Спектрометричний метод безполуменевої атомної абсорбції

ДСТУ ISO 6633-2001 Фрукти, овочі та продукти перероблення. Визначання вмісту свинцю. Спектрометричний метод безполуменевої атомної абсорбції

ДСТУ ISO 6634:2004 Фрукти, овочі та продукти їх перероблення. Визначання вмісту миш'яку спектрометричним методом із застосуванням діетилдитіокарбомату

ДСТУ ISO 6637-2001 Фрукти, овочі та продукти перероблення. Визначання вмісту ртуті. Спектрометричний метод безполуменевої атомної абсорбції

ДСТУ ISO 7952:2004 Фрукти, овочі та продукти перероблення. Визначення вмісту міді спектрометричним методом атомної абсорбції

ДСТУ 3147-95 Коди та кодування інформації. Штрихове кодування. Маркування об'єктів ідентифікації. Формат та розташування штрихкодових позначок EAN на тарі та пакуванні товарної продукції. Загальні вимоги

ДСТУ 3273-95 Безпечність промислових підприємств. Загальні положення та вимоги

ДСТУ 4912:2008 Фрукти, овочі та продукти перероблення. Методи визначання домішок рослинного походження

ДСТУ 4913:2008 Фрукти, овочі та продукти перероблення. Методи визначання мінеральних домішок

ДСТУ 4947:2008 Фрукти, овочі та продукти перероблення. Метод визначення вмісту мікотоксину патуліну

ДСТУ 5093:2008 Консерви. Готування розчинів реактивів, фарб, індикаторів і поживних середовищ, які застосовують у мікробіологічному аналізі

ДСТУ 8449:2015 Продукти харчові консервовані. Методи визначення органолептичних показників, маси нетто або обсягу та масової частки складових частин

ДСТУ 7237:2011 Система стандартів безпеки праці. Електробезпека. Загальні вимоги та номенклатура видів захисту

ДСТУ 7239:2011 ССБП. Засоби індивідуального захисту. Загальні вимоги та класифікація

ДСТУ 7804:2015 Продукти переробляння фруктів та овочів. Метод визначення сухих речовин та вологи

ДСТУ 8004:2015 Концентрати харчові. Методи визначення вологи



ДСТУ 7670:2014 Сировина і продукти харчові. Готування проб. Мінералізація для визначення вмісту токсичних елементів

ДСТУ ISO 1871:2003 Продукти харчові сільськогосподарські. Загальні настанови щодо визначення вмісту азоту методом К'єльдаля (ISO 1871:1975, IDT)

ДСТУ ISO 5498:2004 Продукти харчові сільськогосподарські. Загальний метод визначення вмісту сирої клітковини (ISO 5498:1981, IDT)

ДСТУ 4957:2008 Продукти перероблення фруктів та овочів. Методи визначення титрованої кислотності

ДСТУ 7963:2015 Продукти харчові. Готування проб для мікробіологічних аналізів

ДСТУ 8051:2015 Продукти харчові. Методи відбирання проб для мікробіологічних аналізів

ДСТУ 3583:2015 Сіль кухонна. Загальні технічні умови. З поправкою

ДСТУ 8446:2015 Продукти харчові. Методи визначення кількості мезофільних аеробних та факультативно анаеробних мікроорганізмів

ДСТУ 8447:2015 Продукти харчові. Метод визначення дріжджів і пліснявих грибів

ДСТУ 8828:2019 Пожежна безпека. Загальні положення

ДСТУ 9027:2020 Системи управління якістю. Настанови щодо вхідного контролю продукції

ДСТУ prEN 1672-1-2001 Обладнання для харчової промисловості. Вимоги щодо безпеки і гігієни. Основні положення. Частина 1. Вимоги щодо безпеки

ДСТУ EN 1672-2:2018 Устаткування для харчової промисловості. Основні принципи. Частина 2. Гігієнічні вимоги

ДСТУ EN 765:2005 (EN 765:1994, IDT) Мішки для транспортування продовольства. Мішки з поліолефінового тканого матеріалу, крім поліпропіленового

ДСТУ EN 767:2005 (EN 767:1994, IDT) Мішки для транспортування продовольства. Мішки з джуто-поліолефінового тканого матеріалу

ДСТУ EN 769:2005 (EN 769:1994, IDT) Мішки для транспортування продовольства. Мішки з бавовняно-поліолефінового тканого матеріалу

ДСТУ EN 12824:2004 Мікробіологія харчових продуктів і кормів тварин. Горизонтальний метод виявлення Salmonella

ДСТУ EN 12955-2001 Продукти харчові. Визначення афлатоксинів В1, В2, G1, G2 у зернових культурах, фруктах з твердою шкірою та похідних від них продуктах. Метод високоефективної рідинної хроматографії за допомогою постколонкової дериватизації

ДСТУ OIML R 87:2017 Кількість фасованого товару в упаковках

ДСТУ Б А.3.2-12:2009 Система стандартів безпеки праці. Системи вентиляційні. Загальні вимоги

ГОСТ 30178-96 Сырье и продукты пищевые. Атомно- абсорбционный метод определения токсичных элементов (Сировина і продукти харчові. Атомно-



абсобційний метод визначення токсичных елементів)

ГОСТ 30518-97 Продукты пищевые. Методы выявления и определения количества бактерий группы кишечных палочек (колиформы бактерий) (Ппродукти харчові. Методи виявлення і визначення кількості бактерій групи кишкових паличок (коліформи бактерій)

 $\Gamma$ H 6.6.1.1-130-2006 Допустимі рівні вмісту радіонуклідів  $^{137}$ Cs та  $^{90}$ Sr у продуктах харчування та питній воді. Державні гігієнічні нормативи

ДСанПіН 8.8.1.2.3.4-000-2001 Допустимі дози, концентрації, кількості та рівні вмісту пестицидів у сільськогосподарській сировині, харчових продуктах, повітрі робочої зони, атмосферному повітрі, воді водоймищ, грунті

ДСанПіН 2.2.4-171-10 Гігієнічні вимоги до води питної, призначені для споживання людиною

НПАОП 0.00-7.14-17 Вимоги безпеки та захисту здоров'я під час використання виробничого обладнання працівниками

НПАОП 0.00-7.17-18 Мінімальні вимоги безпеки і охорони здоров'я при використанні працівниками засобів індивідуального захисту на робочому місці

ДБН В.2.5-28:2018 Природне і штучне освітлення

ДБН В.2.5-67:2013 Опалення, вентиляція та кондиціонування

ДСН 3.3.6.037-99 Державні санітарні норми виробничого шуму, ультразвуку та інфразвуку

ДСН 3.3.6.039-99 Державні санітарні норми виробничої загальної та локальної вібрації

ДСН 3.3.6.042-99 Державні санітарні норми мікроклімату виробничих приміщень

MP 4.4.4-108-2004 Методичні рекомендації. Періодичність контролю продовольчої сировини та харчових продуктів за показниками безпеки

Постанова КМУ від 25.03.1999 №465 Правила охорони поверхневих вод від забруднення зворотними водами

Наказ МОЗ України № 52 від 14.01.2020 Про затвердження гігієнічних регламентів допустимого вмісту хімічних і біологічних речовин в атмосферному повітрі населених місць

Наказ МОЗ України № 145 від 17.03.2011 Про затвердження Державних санітарних норм та правил утримання територій населених місць

Наказ МОЗ України № 150 від 21.02.2013 Про внесення змін до наказу Міністерства охорони здоров'я України від 23 липня 2002 року № 280

Наказ МОЗ України № 280 від 23.07.2002 Щодо організації проведення обов'язкових профілактичних медичних оглядів працівників окремих професій, виробництв і організацій, діяльність яких пов'язана з обслуговуванням населення і може призвести до поширення інфекційних хвороб

Наказ МОЗ України №368 від 13.05.2013 Про затвердження Державних



гігієнічних правил і норм «Регламент максимальних рівнів окремих забруднюючих речовин у харчових продуктах»

Наказ МОЗ України № 548 від 19.07. 2012 Про затвердження мікробіологічних критеріїв для встановлення показників безпечності харчових продуктів

### 3 ТЕРМІНИ ТА ВИЗНАЧЕННЯ ПОНЯТЬ

- 3.1 В цих технічних умовах використано терміни:
- 3.1.1 Продукти із таро концентровані (пюре, паста) це продукти, які виготовляють з цілих або подрібнених, грубопротертих чи протертих коренеплодів таро або відновленням порошку таро.
- 3.1.2. Продукти із таро сушені (порошок) це продукт, який виготовляють з попередньо підготовлених, висушених та подрібнених до заданого розміру частинок коренеплодів таро.

### 4 ТЕХНІЧНІ ВИМОГИ

- **4.1** Продукти із таро концентровані та сушені повинні відповідати вимогам цих технічних умов і вироблятися відповідно до вимог технологічної інструкції з дотриманням санітарних правил і норм, затверджених на підприємстві в установленому порядку.
  - 4.2 Класифікація концентрованих та сушених продуктів із таро:
  - концентроване пюре таро;
  - концентрована паста таро;
  - порошок таро.
  - 4.4 Основні показники і характеристики
- **4.4.1** За органолептичними показниками продукти із таро концентровані та сушені повинні відповідати вимогам, наведеним в таблиці 1.

### Таблиця 1

Найменування	Характо	еристика		
показників	концентроване пюре, концентрована паста	порошок		
1 Смак і запах	Чистий без сторонніх присмаків і запахів			
Від прозорого до світло- кремового кольору та від рожевого до світло червоного, у залежності від сорту допускається жовтий та помаранчевий		Від білого до світло- кремового та від рожевого до світло червоного, у залежності від сорту допускається жовтий та помаранчевий відтінок		
3 Консистенція	Однорідний гель без осаду	Порошок без сторонніх домішок		



**4.4.2** За фізико - хімічними показниками продукти із таро концентровані та сушені повинні відповідати вимогам, наведеним у таблиці 2.

**Таблиця 2** — Фізико - хімічні показники продуктів із таро концентрованих та сушених

	Нормовані	значення	— Методи контролювання	
Найменування показників	порошок	пюре, паста		
Масова частка вологи, %, не більше ніж	15,0	65,0	ДСТУ 8004	
Масова частка протеїну, %, не менше ніж	10,0	5,0	ДСТУ ISO 1871	
Масова частка харчових волокон (клітковини), %, не менше ніж	40,0	15,0	ДСТУ ISO 5498	
рН 10 % водної суспензії	10-1	1	ДСТУ 4957	

**4.4.3** За вмістом токсичних елементів і мікотоксинів продукти із таро концентровані та сушені повинні відповідати вимогам, наведеним у Наказі МОЗ України №368 від 13.05.2013 і зазначеним в таблиці 3.

Таблиця 3

Назва токсичних елементі	допустимі рівні	Методи випробовування	
Токсичні елементи, мг/кг, не	більше ніж:		
ртуть	0,02	Згідно з ГОСТ 26927 [1],	
pryrib	0,02	ДСТУ ISO 6637	
миш'як	1,0	Згідно з ГОСТ 26930[2],	
MIIII AK	1,0	ДСТУ ISO 6634	
мідь	5,0	Згідно з ГОСТ 26931[3],	
МІДВ	3,0	ДСТУ ISO7952,ГОСТ 30178	
свинець	0,5	Згідно з ГОСТ 26932[4], ДСТУ	
свинсцв	0,3	ISO 6633, FOCT 30178	
кадмій	0,03	Згідно з ГОСТ 26933[5], ДСТУ	
кадми	0,03	ISO 6561, ΓΟCT 30178	
Мікотоксини, мг/кг, не більше	е ніж:	h	
афлатоксин В1	0,005	Згідно з МУ 4082 [8], МР 2273 [6],	
афлатоксин БТ	0,003	ДСТУ EN 12955	
мікотоксин патулін	0,05	ДСТУ 4947	
зеараленон	1,0	Згідно з МР 2964 [7]	



**4.4.4** За показниками безпеки (мікробіологічні показники) продукти із таро концентровані та сушені повинні відповідати вимогам, наведеним у Наказі МОЗ України № 548 від 19.07.2012 і зазначеним у таблиці 4.

Таблиця 4

Назва показників	Допустимі рівні	Методи випробовування
Кількість мезофільних аеробних і факультативно-анаеробних мікроорганізмів, КУО в 1 г, не більше ніж	5-104	Згідно з ДСТУ 8446
Бактерії групи кишкових паличок (коліформи) в 0,1 г	Не дозволено	Згідно з ГОСТ 30518
Патогенні мікроорганізми, зокрема бактерії роду Salmonella, в 25 г	Не дозволено	Згідно з ДСТУ EN 12824
Плісняві гриби, КУО в 1 г, не більше ніж	1-102	Згідно з ДСТУ 8447
Дріжджі, КУО в 1 г, не більше ніж	1-102	Згідно з ДСТУ 8447

### 4.5 Вимоги до сировини та матеріалів

Для виробництва продуктів із таро концентрованих та сушених використовують наступну сировину:

- коренеплоди таро (Colocásia esculénta) багаторічна рослина, вид роду колоказія (Colocasia) родини кліщинцеві (Araceae) згідно з чинною НД;
- масу таро подрібнену або грубопротерту або протерту, прогріту та охолоджену, яку застосовують для виробництва пюре та пасти із таро, згідно з чинним нормативним документом;
- сіль кухонну харчову згідно з ДСТУ 3583 виварену, запаковану, не нижче вищого гатунку, без добавок;
- воду питну згідно з ДСанПіН 2.2.4-171, яка не містить спор мезофільних облігатних анаеробних мікроорганізмів у 100 см<sup>3</sup>.

Під час виробництва продуктів із таро концентрованих та сушених застосовують сировину, в якій вміст токсичних елементів, мікотоксинів та пестицидів не перевищує допустимі рівні, встановлені згідно з Наказом МОЗ України від 19.07.2017 № 548, Наказом МОЗ України від 13.05. 2013 № 368 та ДСанПіН 8.8.1.2.3.4-000.

Заборонено використовувати модифіковану сировину, яка не дозволена для використовування центральним органом виконавчої влади у сфері охорони здоров'я.

Вміст радіонуклідів  $^{137}$ Cs і  $^{90}$ Sr у сировині не повинен перевищувати встановлені допустимі рівні згідно з ГН 6.6.1.1-130.

За мікробіологічними показниками сировина не повинна перевищувати допустимі рівні, які встановлено згідно Наказу МОЗ України від 19.07.2017 № 548.

**4.5.2** Обладнання та матеріали, що застосовуються при виробництві продуктів, повинні відповідати чинним нормативним документам та бути дозволені для



використання центральним органом виконавчої влади, що забезпечує формування державної політики у сфері охорони здоров'я для даних цілей.

- **4.5.3** Вхідний контроль сировини, матеріалів проводять у відповідності з ДСТУ 9027 та порядком, встановленим виробником.
- **4.5.4** Кожна партія сировини та матеріалів, що надходять на підприємство, повинна супроводжуватись документом про якість встановленої форми та повинна бути дозволена для використання центральним органом виконавчої влади України у сфері охорони здоров'я.
  - 4.6 Пакування
  - 4.6.1 Продукти із таро концентровані та сушені випускають фасованим.
  - 4.6.1.1 Продукти сушені (порошок) фасують масою нетто від 1 кг 30 кг у:
  - мішки паперові марки ПМ згідно з ДСТУ EN 769;
- мішки паперові марки НМ згідно з ДСТУ EN 767, з поліетиленовими мішками-укладками згідно з ДСТУ EN 765.

Мішки з порошком таро зашивають машинним способом нитками лляними, бавовняними, синтетичними згідно з діючими НД, які забезпечують міцність зшивання.

Мішки для фасування порошку таро дозволено використовувати тільки чисті, сухі, вони не повинні мати сторонніх запахів, не бути зараженими шкідниками хлібних запасів.

- **4.6.1.2** Продукти із таро концентровані (пасти та пюре) фасують масою нетто від 5 кг до 200 кг в:
- паперові пакети з комбінованого матеріалу типу «Pure-Pak» згідно діючої НД;
- пакети з поліетиленової плівки з внутрішнім чорним покриттям згідно діючої НД;
  - бочки харчові пластикові «Euro Plast» згідно діючої НД.
- **4.6.2** Дозволено використання інших видів тари і пакування, як вітчизняного, так і імпортного виробництва, дозволених до використання центральним органом виконавчої влади у сфері охорони здоров'я для контакту з харчовими продуктами і, які забезпечують збереженість і якість продукції під час транспортування і зберігання.
- **4.6.3** Фасування продуктів із таро концентрованих та сушених здійснюється за масою.
- **4.6.4** Значення допустимих мінусових відхилень маси продуктів із таро концентрованих та сушених в пакувальній одиниці згідно з ДСТУ ОІМL R 87 та повинні відповідати вимогам, наведеним в таблиці 5.



Таблиця 5

Маса продукту фасованого, г, см <sup>3</sup>	Допустиме від'ємне відхилення маси продукту в пакувальній одиниці		
	%	Γ	
Понад 500 г до 1000 г включно	s=	15	
Понад 1000 г до 10000 г включно	1,5	8#	
Понад 10000 г до 15000 г включно	-	150,0	
Більше 15000 г	1,0	22	

- **4.6.5** Додаткові вимоги до пакування, що не суперечать законодавству України, можуть бути передбачені договором або контрактом.
  - 4.7 Маркування
- **4.7.1** Маркування повинно відповідати вимогам Закону України від 06.12.2018 №2639-VIII та цих ТУ.
- **4.7.2** На кожну одиницю споживчої таро з фасованими продуктами із таро концентрованими та сушеними наносять маркування, яке повинно містити наступну інформацію:
  - назву продукту (власну назву за наявності);
  - вид продукту ( пюре, паста, порошок).
  - назву виробника, його юридичну адресу та адресу потужності виробництва;
  - торгівельну марку виробника (за наявності);
- масу нетто одиниці пакування, кг або об'єм, дм $^3$  та допустиме мінусове відхилення;
- харчову (поживну) цінність та енергетичну цінність (калорійність) (у кДж і/або ккал) на 100 г продукту (розраховує виробник відповідно до рецептури за формулою, наведеною в додатку А);
- кінцеву дату споживання «Вжити до» або дату виробництва (число, місяць, рік) та строк придатності;
  - умови зберігання;
  - номер партії;
  - позначення цих ТУ;
  - штриховий код EAN згідно з ДСТУ 3147.

### 5 ВИМОГИ БЕЗПЕКИ

- **5.1** Під час виготовлення продуктів із таро концентрованих та сушених необхідно дотримуватись вимог щодо безпеки, що встановлені технологічною інструкцією, розробленою та затвердженою у встановленому порядку.
  - 5.2 Виробничі приміщення повинні відповідати діючим санітарним нормам.
- 5.3 Технологічне обладнання повинно відповідати вимогам ДСТУ 3273, ДСТУ EN 1672-2, ДСТУ prEN 1672-1.

ДП "СУМИСТАНДАРТМЕТРОЛОГІЯ" ПЕРЕВІРЕНО Технологічне обладнання та устаткування повинні очищуватись та дезінфікуватись за допомогою мийних та дезінфекційних засобів, дозволених для використання центральним органом виконавчої влади, що забезпечує формування державної політики у сфері охорони здоров'я, та за наявності свідоцтва про реєстрацію згідно з інструкцією з використання та графіком, розробленими і затвердженими у встановленому порядку.

Після проведеної дезінфекції проводиться промивка обладнання питною водою до відсутності залишків дезінфікуючого розчину. Проби для аналізів відбирають з останніх промивних вод.

- 5.4 При виявленні бактеріального забруднення, проводять позачергову дезінфекцію. Для дезінфекції слід використовувати тільки свіжовиготовлені розчини згідно з інструкцією з використання.
  - 5.5 Робочі місця повинні бути забезпечені інструкціями з техніки безпеки.
- **5.6** Працівники повинні бути забезпечені спецодягом згідно чинного законодавства та ДСТУ 7239, НПАОП 0.00-7.14, НПАОП 0.00-7.17.
- 5.7 Персонал, що працює на виробництві продуктів із таро концентрованих та сушених, повинен проходити періодичні медичні огляди згідно з Наказом МОЗ України від 23.07.2002 № 280 та Наказом МОЗ України від 21.02.2013 № 150.
- **5.8** Виробничі приміщення повинні бути обладнані припливно-витяжною вентиляцією та опалюванням згідно з ДСТУ Б А.3.2-12, ДБН В.2.5-67.
- **5.9** Повітря робочої зони та мікроклімат виробничих приміщень повинні відповідати вимогам ДСН 3.3.6.042.
- **5.10** Штучне та природнє освітлення виробничих приміщень повинно відповідати вимогам ДБН В.2.5-28.
- **5.11** В процесі виробництва необхідно дотримуватись вимог електробезпеки згідно ДСТУ 7237.
- **5.12** Пожежна безпека на підприємстві повинна відповідати вимогам ДСТУ 8828.
- **5.13** Виробничі приміщення повинні бути забезпечені питною водою згідно з ДСанПіН 2.2.4-171.
- **5.14** Рівень шуму та вібрації у виробничому приміщенні під час роботи виробничого обладнання не повинен перевищувати рівні, встановлені ДСН 3.3.6.037, ДСН 3.3.6.039.

### 6 ВИМОГИ ОХОРОНИ ДОВКІЛЛЯ, УТИЛІЗАЦІЯ

- **6.1** Охорона атмосферного повітря від забруднення повинна здійснюватися відповідно до вимог Закону України № 2707-ХІІ від 16.10.1992 р., Наказу МОЗ України № 52 від 14.01.2020 р.
- **6.2** Переробку, утилізацію, знищення неякісної продукції здійснюють згідно з вимогами, що встановлені Законом України № 1393-ХІУ віды 14.01.2000, Закону



України №187/98-ВР від 05.03.1998.

- **6.3** Охорона грунту від забруднення побутовими та промисловими відходами повинна здійснюватися згідно з вимогами Наказу МОЗ України від 17.03.2011 № 145.
- **6.4** Охорона поверхневих вод від забруднення повинна здійснюватися відповідно до вимог Постанови КМУ № 465 від 25.03.1999 р.

### 7 ПРАВИЛА ПРИЙМАННЯ

7.1 Продукти із таро концентровані та сушені приймають партіями.

Партія – будь-яка кількість продуктів із таро концентрованих та сушених (пюре, паста, порошок) з однією назвою, виготовлена з однакової сировини на одному і тому ж обладнанні протягом одного технологічного циклу та оформлена одним документом про якість.

Правила приймання, визначання партії, об'єм вибірки та відбирання проб - згідно з ДСТУ 8051, ДСТУ 7963, ДСТУ 4595, ДСТУ 7670, ДСТУ 5093.

- **7.2** Для визначання відповідності якості продуктів вимогам цих ТУ підприємство-виробник проводить приймальне і періодичне контролювання.
- 7.3 Приймальне контролювання кожної партії проводять за органолептичними, фізико-хімічними показниками, масою нетто або об'ємом пакувальної одиниці, якістю пакування і маркування.
  - **7.4** Періодичність контролю за показниками безпеки згідно MP 4.4.4-108.
- 7.5 У разі отримання незадовільних результатів контролювання хоча б за одним із показників (органолептичних, фізико-хімічних, мікробіологічних і безпечності) проводять повторне аналізування подвійної кількості вибірки продуктів концентрованих та сушених із таро (пюре, паста, порошок) від тієї самої партії.
- **7.6** Незадовільні результати після повторного контролювання поширюють на всю партію і партію бракують.

### 8 МЕТОДИ КОНТРОЛЮВАННЯ

- **8.1** Зовнішній вигляд, правильність пакування і маркування на відповідність вимогам цих ТУ контролюють візуально.
  - 8.2 Визначають органолептичні показники (запах, колір) згідно з ДСТУ 8449.
  - 8.2.1 Визначання смаку
  - 8.2.1.1 Засоби вимірювання, матеріали

Ваги лабораторні - згідно з діючою НД, 3-го класу точності з найбільшою межею зважування до 1 кг.

Вода дистильована - згідно з діючою НД.

8.2.1.2 Правила проведення випробовування



Наважку продуктів із таро концентрованих та сушених (пюре, паста, порошок)  $(10\pm1)$  г, злегка зволожують дистильованою водою. Смак визначають шляхом органолептичного оцінювання.

- 8.3 Визначають масову частку вологи згідно з ДСТУ 8004.
- 8.4 Визначають масову частку протеїну згідно з ДСТУ ISO 1871.
  - 8.5 Визначають рН 10 % водної суспензії згідно з ДСТУ 4957.
  - 8.6 Визначання сторонніх домішок (для порошку)

Визначення домішок - згідно ДСТУ 4912, ДСТУ 4913.

Відібрану пробу розкладають тонким шаром на дошці та прискіпливо переглядають на наявність сторонніх домішок.

У разі наявності сторонніх домішок продукцію бракують.

- **8.7** Визначають вміст токсичних елементів згідно з ДСТУ ISO 6637, ДСТУ ISO 6634, ДСТУ ISO 6634, ДСТУ ISO 6633, ДСТУ ISO 6561, ДСТУ ISO 7952, ГОСТ 26927 [1], ГОСТ 26930[2], ГОСТ 26931[3], ГОСТ 26932[4], ГОСТ 26933[5], ГОСТ 30178.
- **8.8** Вміст мікотоксинів визначають згідно з МУ 4082 [6], МР 2273 [6], ДСТУ EN 12955, МР 2964 [7], ДСТУ 4947.
- **8.9** Вміст радіонуклідів визначають згідно з ГН 6.6.1.1-130 МУ 5778 [9] та МУ 5779 [10] та іншими методиками, затвердженими у встановленому порядку.
- **8.10** Контролювання вмісту пестицидів здійснюється згідно з ДСанПіН 8.8.1.2.3.4-000.
  - 8.11 Визначають плісняві гриби та дріжджі згідно з ДСТУ 8447.
- **8.12** Масу продуктів концентрованих та сушених із таро (пюре, паста, порошок) у споживчій упаковці контролюють за допомогою ваг для статичного зважування згідно чинних НД.

### 9 ТРАНСПОРТУВАННЯ ТА ЗБЕРІГАННЯ

- **9.1** Продукти концентровані та сушені із таро (пюре, паста, порошок) транспортують усіма видами транспорту згідно з правилами перевезення вантажу, чинними на відповідному виді транспорту. Транспортні засоби повинні бути криті, чисті, сухі, без стороннього запаху.
- **9.2** Продукти сушені із таро (порошок), пакований у мішки, дозволено транспортувати транспортними пакетами із застосуванням піддонів згідно з діючою НД, або універсальним металевим контейнером згідно з діючою НД.
- 9.3 Продукти концентровані із таро (пюре, паста), пакований у паперові пакети з комбінованого матеріалу типу «Pure-Pak», пакети з полієтиленової плівки з внутрішнім чорним покриттям дозволено транспортувати транспортними пакетами із застосуванням піддонів згідно діючої НД, або універсальним металевим контейнером згідно з діючою НД.
- **9.4** Зберігають продукти сушені із таро (порошок) у чистих сухих приміщеннях, не заражених шкідниками хлібних запасів, добре вентильованих або



обладнаних припливно-витяжною вентиляцією, захищених від дії прямого сонячного світла та джерел тепла, за температури (20-30) °С та відносної вологості повітря не більше ніж 75 %. Термін зберігання - не більше 3 роки. Якщо термін зберігання порошку перевищує 1 рік, то перед використанням у харчовому виробництві необхідно перевірити його на відповідність органолептичним та мікробіологічним нормам.

- 9.5 Продукти концентровані (пюре, паста) зберігають у чистих сухих приміщеннях, добре вентильованих або обладнаних припливно-витяжною вентиляцією, захищених від дії прямого сонячного світла та джерел тепла за температури (0-8) °C та відносній вологості повітря не більше 80 %. Термін зберігання не більше 1 року. Якщо термін зберігання перевищує 180 діб, то перед використанням у харчовому виробництві необхідно перевірити його на відповідність органолептичним та мікробіологічним нормам.
- 9.6 Строки придатності продуктів концентрованих та сушених із таро (пюре, паста, порошок) може встановлювати виробник (залежно від якості сировини, рівня технології виробництва, характеристик обладнання, умов фасування та властивостей пакувальних матеріалів) за умов відповідності продуктів вимогам цих ТУ та погодження цих строків з центральним органом виконавчої влади з питань охорони здоров'я.

### 10 ГАРАНТІЇ ВИРОБНИКА

- **10.1** Виробник гарантує відповідність безпечності та якості продуктів вимогам цих технічних умов при дотриманні умов зберігання і транспортування.
  - 10.2 Гарантійний термін зберігання продуктів встановлено в 9.4, 9.5 цих ТУ.



### ДОДАТОК А

(довідковий)

## МЕТОД РОЗРАХУНКУ ПОЖИВНОЇ (ХАРЧОВОЇ) ЦІННОСТІ ТА ЕНЕРГЕТИЧНОЇ ЦІННОСТІ (КАЛОРІЙНОСТІ) У 100 Г ПРОДУКТІВ КОНЦЕНТРОВАНИХ ТА СУШЕНИХ ІЗ ТАРО (ПЮРЕ, ПАСТА, ПОРОШОК)

Для розрахунку енергетичної цінності продуктів концентрованих та сушених із таро (пюре, паста, порошок) застосовують наступну формулу:

$$E = k_6 \times (M_6 + M_B) + k_6 \times M_{\mathcal{H}}, \tag{1}$$

де E - енергетична цінність, ккал;

 $M_{\rm 5}$  - масова частка білка, г/100 г продукту;

 $M_{\rm B}$  - масова частка вуглеводів, г/100 г продукту;

 $M_{\rm ж}$  - масова частка жиру, г/100 г продукту;

 $k_6 = 4$  — коефіцієнт енергетичної цінності 1 г білка чи 1 г вуглеводів у продукті, ккал/г;

 $k_{*} = 9$  - коефіцієнт енергетичної цінності 1 г жиру в продукті, ккал/г.

Якщо потрібно подати енергетичну цінність (калорійність) у вигляді поживної (харчової) цінності, у кілоджоулях, використовують наступний перерахунок:

1 ккал = 4,184 кДж



### ДОДАТОК Б (довідковий)

### БІБЛІОГРАФІЯ

- 1 ГОСТ 26927-86 Сырье и продукты пищевые. Метод определения ртути (Сировина і продукти харчові. Метод визначання ртуті)
- 2 ГОСТ 26930-86 Сырье и продукты пищевые. Метод определения мышьяка (Сировина і продукти харчові. Метод визначення миш'яку)
- 3 ГОСТ 26931-86 Сырье и продукты пищевые. Метод определения меди (Сировина і продукти харчові. Метод визначення міді)
- 4 ГОСТ 26932-86 Сырье и продукты пищевые. Методы определения свинца (Сировина і продукти харчові. Методи визначання свинцю)
- 5 ГОСТ 26933-86 Сырье и продукты пищевые. Метод определения кадмия (Сировина і продукти харчові. Метод визначення кадмію)
- 6 MP 2273-80 Методические рекомендации по обнаружению, идентификации и определению содержания афлатоксинов в пищевых продуктах (Методичні рекомендації щодо виявлення, ідентифікації і визначання вмісту афлатоксинів у харчових продуктах), затверджені МОЗ СРСР 10.12.1980 р.
- 7 MP 2964-84 Методические рекомендации по обнаружению, идентификации и определению содержания зеараленона в пищевых продуктах (Методичні рекомендації щодо виявлення, ідентифікації і визначання вмісту зеароленону в харчових продуктах), затверджені МОЗ СРСР 23.01.1984 р. 5
- 8 МУ 4082-86 Методические указания по обнаружению, идентификации и определению содержания афлатоксинов в продовольственном сырье и пищевых продуктах с помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии (Методичні вказівки щодо виявлення, ідентифікації і визначання вмісту афлатоксинів у продовольчій сировині і харчових продуктах за допомогою високо-ефективної рідинної хроматографії), затверджені МОЗ СРСР 20.03.86 р.
- 9 МУ 5778-91 Стронций-90. Определение в пищевых продуктах (Стронцій-90. Визначанняв харчових продуктах)
- 10 МУ 5779-91 Цезий-137. Определение в пищевых продуктах (Цезій-137. Визначання в харчових продуктах), затверджені МОЗ СРСР 04.01.1991 р.



### АРКУШ ОБЛІКУ ЗМІН ТЕХНІЧНИХ УМОВ

№ Зм.	Номера листів		Номер документа	Підпис	Дата	Термін введення змін		
	Змінених	Нових	Скасованих	Замінених				
					8			



# Addition E Q/YTBG-0001S-2022 "Pumpkin Seed Meal Cookies"



## Q/YTBG

## 深圳市易通报关有限公司企业标准

Q/YTBG-0001S-2022

南瓜籽粕饼干 2022年09月05日 15点20分

2022-09-05 发布

2022-09-06 实施

深圳市易通报关有限公司 发布



本标准根据 GB/T 1.1-2020《标准化工作导则第1部分:标准化文件的结构和起草规则》的规定编写。 本标准的感官指标、水分含量根据产品的特性制定; 铅限量根据 GB 2762《食品安全国家标准 食品 中污染物限量》制定,并严于GB 2762的要求;酸价、过氧化值、菌落总数、大肠菌群、霉菌限量根据GB 7100《食品安全国家标准 饼干》制定; 致病菌限量根据 GB 29921《食品安全国家标准 食品中致病菌限 制定; 其他项目根据自分本标准由贺州学院、苏梅国立农业大学、1870年本标准起草人: 高丹、Anna 0. Helikh提出。本标准首次发布日期: 2022年9月5日。 量》制定;其他项目根据有关规定编写。

不是有多数的数据数据。 2022年09月05日 15点20分

### 南瓜籽粕饼干

### 1 适用范围

本标准规定了南瓜籽粕饼干的技术要求、生产加工过程卫生要求、试验方法、检验规则和标志、包装、 运输、贮存等要求。

本标准适用于以南瓜籽粕粉、低筋小麦粉、魔芋粉、鲜鸡蛋、水为主要原料,以食用植物油(非转基 因)、黄油、麦芽糖醇、碳酸氢铵、碳酸氢钠为辅料,经搅拌、成型、烘烤、冷却、包装等工序制成的南瓜 籽粕饼干。

### 2 规范性引用文件

下列文件对于本文件的应用是必不可少的。凡是注日期的引用文件,仅注日期的版本适用于本件。 凡 是不注日期的引用文件,其最新版本(包括所有的修改单)适用于本文件。

- GB/T 191 包装储运图示标志
- GB 1888 食品安全国家标准 食品添加剂 碳酸氢铵
- GB 1886.2 食品安全国家标准 食品添加剂 碳酸氢钠
- GB 2716 食品安全国家标准 植物油
- GB 2721 食品安全国家标准 食用盐
- GB 2749 食品安全国家标准 蛋与蛋制品
- GB 2760 食品安全国家标准 食品添加剂使用标准
- GB 2762 食品安全国家标准食品中污染物限量(含第1号修改单)
- GB 2763 食品安全国家标准食品中农药最大残留限量
- GB 4789.1 食品安全国家标准 食品微生物学检验 总则
- GB 4789.2 食品安全国家标准 食品微生物学检验 菌落总数测定
- GB 4789.3 食品安全国家标准 食品微生物学检验 大肠菌群计数
- GB 4789.4 食品安全国家标准 食品微生物学检验 沙门氏菌检验
- GB 4789.10 食品安全国家标准 食品微生物学检验 金黄色葡萄球菌检验
- GB 4789.15 食品安全国家标准食品微生物学检验霉菌和酵母计数
- GB 5009.3 食品安全国家标准食品中水分的测定
- GB 4806.7 食品安全国家标准食品接触用塑料材料及制品
- GB 5009.12 食品安全国家标准 食品中铅的测定
- GB 5009. 227 食品安全国家标准食品中过氧化值的测定
- GB 5009. 229 食品安全国家标准食品中酸价的测定
- GB 5749 生活饮用水卫生标准
- GB/T 6543 运输包装用单瓦楞纸箱和双瓦楞纸箱

· 7100 食品安全国家标准饼干

3 7718 食品安全国家标准 预包装食品标签通则

3/T 8608 食品安全国家标准 低筋小麦粉

GB 9683 复合食品包装袋卫生标准

GB 14881 食品安全国家标准 食品生产通用卫生规范

GB 28050 食品安全国家标准 预包装食品营养标签通则

GB 28307 食品安全国家标准 食品添加剂 麦芽糖醇和麦芽糖醇液 (含1号修改单)

LS/T 3217 人造奶油(人造黄油)

NY/T 494 魔芋粉

JJF 1070 定量包装商品净含量计量检验规则

国家质量监督检验检疫总局第75号令 《定量包装商品计量监督管理办法》

国家质量监督检验检疫总局令第123号[2009]食品标识管理规定(修订版)

### 3 技术要求

### 3.1 原辅料

3.1.1 南瓜籽粕: 应符合GB 14932的要求

3.1.2 低筋小麦粉: 应符合GB 8608的要求

3.1.3 魔芋粉: 应符合NY/T 494的要求

3.1.4 鲜鸡蛋: 应符合GB 2749的要求。

3.1.5 生产用水: 应符合GB 5749的要求。

3.1.6 食用植物油(非转基因): 应符合GB 2716的要求。

3.1.7 黄油: 应符合LS/T 3217 的要求。

3.1.8 麦芽糖醇: 应符合GB 28307的要求。

3.1.9 碳酸氢铵: 应符合GB 1888的要求。

3.1.10 碳酸氢钠: 应符合GB 1886.2的规定。

3.2 感官指标

感官指标应符合表1的要求。

品计量。 4年以管理规定 9月05日 15点20分

227-09 A 05 A 15 A 2034



### 表1 感官要求

项目	要求	检验方法
颜色	具有该产品应有的正常色泽。	取适量试样置于白瓷盘
组织状态	薄片状,外形完整,花纹清晰,厚薄基本均匀, 不变形无裂痕,结构细密,断面无在孔洞。	中,在自然光下用目测法 进行色泽、组织形态、杂
滋味、气味	口感松脆,不粘牙,甘香可口,回味有南瓜籽应 有的自然香气,无异味。	质等项目检验; 取适量试 样, 先闻其气味, 然后用
杂质	无肉眼可见的外来杂质。	温开水漱口,再品尝试样的滋味。

### 3.3 理化指标

理化指标应符合表2的要求。

表2 理化指标

项目	14~~指标
水分/(g/100g)	€ 4.0
铅(以Pb计)/(mg/kg)	< / 0.4
酸价(以脂肪计)(KOH)/(mg/g)	≤ 5.0
过氧化值(以脂肪计)/(g/100g)	≤ 1<0.25

### 3.4 致病菌限量

致病菌限量应符合表3的要求。

表3 致病菌限量

项目	n	c	m	M
菌落总数 (CFU/g)	5	2	$10^{4}$	10 <sup>5</sup>
大肠菌群 (CFU/g)	5	2	10	$10^{2}$
沙门氏菌	2 5 <	1 0	0	#8
金黄色葡萄球菌(CFU/g)	5 5	-100	$10^{2}$	10 <sup>3</sup>
霉菌 (CFU/g) ≤	1000	17/0	0	
*样品的采集及处理按GB 4789	9.1执行。 //	0~	300	
		DO	754	
		15		7

### 3.5 净含量

应符合国家质量监督检验检疫总局第75号令《定量包装商品计量监督管理办法》的规定。

### 3.6 食品添加剂

- 3.6.1 食品添加剂的质量应符合相应标准和有关规定。
- 3.6.2 食品添加剂的品种和使用量应符合GB 2760规定。麦芽糖醇、碳酸氢铵根据生产需要适量添加。

### 4 生产加工过程卫生要求

生产加工过程应符合GB 14881的规定。

### 试验方法

### 1 感官指标

在正常条件下,将样品置于洁净白搪瓷盘中,观察其色泽、组织形态及杂质,闻其气味,尝其滋味。

### 5.2 理化指标

- 5.2.1 水分: 按GB 5009.3规定的方法检验。
- 5.2.2 铅: 按GB 5009.12规定的方法检验。
- 5.2.3 酸价: 按GB 5009.229规定的方法检验。
- 5.2.4 过氧化值: 按GB 5009.227规定的方法检验。

### 5.3 微生物

- 5.3.1 菌落总数:按GB 4789.2规定的方法检验。
- 5.3.2 大肠菌群:按GB 4789.3平板计数法规定的方法检验。
- 5.3.3 沙门氏菌: 按GB 4789.4规定的方法检验。
- 5.3.4 金黄色葡萄球菌:按GB 4789.10第二法规定的方法检验。
- 5.3.5 霉菌: 按GB 4789.15规定的方法检验。

### 5.4 净含量

按JJF 1070规定的方法检验。

### 6 检验规则

### 6.1 组批

以同一投料同一班次生产的同一规格产品为一货批。

### 6.2 抽样

从同货批产品中按不少于200个独立包装的抽样基数随机抽取样品,样品数量不少于6个最小独立包装,样品质量不少于1kg。样品分成二份,一份用于检验;另一份留置备查。

### 6.3 检验

6.3.1 出厂检验

产品须经生产企业质量检验部门检验合格后方可出厂。出厂检验项目包括感官指标、水分、净含量、菌落总数、大肠菌群和标签。

### 6.3.2 型式检验

型式检验项目为本标准规定的全部项目,每半年进行一次。有下列情形之一时也应进行型式检验。

- a) 新产品投产时
- b) 连续停产三个月以上, 恢复生产时;
- c) 主要原材料来源、关键工艺或设备发生改变时;
- d) 出厂检验结果与上次型式检验有较大差异时;
- e) 国家食品安全监管部门提出要求时。

### 6.4 判定规则



检验结果如有不合格项,可对原批次产品双倍取样或对留置备查样品复检,复检结果如仍有不合格项, 到该批产品为不合格品;微生物指标不合格不得复检。

#### 7 标志、包装、运输、贮存及保质期

#### 7.1 标志

标签应符合GB 7718、GB 28050的规定。包装贮运图示标志应符合GB/T 191的规定。

#### 7.2 包装

产品采用塑料制品或复合食品包装袋包装,包装材料应分别符合GB 4806.7或GB 9683的要求。外包装瓦楞纸箱应符合GB/T 6543的要求。

#### 7.3 运输

- 7.3.1 运输工具应保持干燥、清洁、平整、无异味;应防止污染。不能影响包装及质量。
- 7.3.2 运输时要防止受热、受潮。
- 7.3.3 运输时应轻装轻卸,平面堆放,防止倾倒、重压,防止包装破碎和产品变形。若有破损时,应及时加封。
  - 7.3.4 在周转堆放时,应防止日晒雨淋,不得在露天长期堆放,或直接放在地上,以免受潮。

#### 7.4 贮存

产品应存放于通风阴凉、干燥、清洁、无异味的库房中,避免阳光直射。应有防火、防虫、防鼠设施,并应防止农药和其他化学物品污染成品,产品不得与有毒、有腐蚀性、易挥发或恶臭的物品同库储存,贮存时货物离地面≥20 cm,离墙面≥20 cm。

#### 7.5 保质期

在符合上述文件规定的包装、运输和贮存条件下,且包装完好,产品的保质期不少于12个月,具体按产品包装标注执行。

和贮存条件下,且也和 2022年09月05日 15点20分

## Addition F Q/YTBG-0002S-2022 "Pumpkin Seed Protein Isolate Sausage"



### Q/YTBG

#### 深圳市易通报关有限公司企业标准

Q/YTBG-0002S-2022

# 南瓜籽分离蛋白香肠

2022-9-15 发布

2022-9-16 实施

深圳市易通报关有限公司 发布



本标准根据 GB/T 1.1-2020《标准化工作导则第 1 部分:标准化文件的结构和起草规则》的规定编写。 本标准中的感官要求和质量指标(水分、氯化物、蛋白质、淀粉)根据产品特征及配料制定,污染 物指标依据 GB 2762《食品安全国家标准食品中污染物限量》制定,铅指标严于 GB 2762的规定,六六六、 滴滴涕指标依据 GB 2763《食品安全国家标准食品中农药最大残留限量》制定,兽药残留限量应符合国家 有关规定和公告, 微生物指标依据 GB 10136《食品安全国家标准动物性水产制品》、GB 29921《食品安 全国家标准食品中致病菌限量》制定,食品添加剂依据 GB 2760《食品安全国家标准食品添加剂使用标准》 本标准由贺州学院、苏梅国立农业大学、深圳印象。 本标准起草人: 高丹、Anna O. Helikh 提出。 制定。

#### 南瓜籽分离蛋白香肠

#### 1 适用范围

本标准规定了南瓜籽分离蛋白香肠的技术要求、生产加工过程卫生要求、试验方法、检验规则和标志、 包装、运输、贮存等要求。

本标准适用于以猪肉为主要原料,添加南瓜籽分离蛋白、变性淀粉、食用植物油、水、白砂糖、食用盐、 味精、调味料酒、酱油、姜蒜、D-异抗坏血酸钠生抽、十三香、山梨酸钾、红曲粉,经腌制、搅拌、斩拌或 乳化、灌入塑料肠衣、高温杀菌等工序制成的香肠。

下列文件对于本文件的应用是必不可少的。凡是注日期的引用文件,仅注日期的版本适用于本件。凡是

- GB 2707 食品安全国家标准鲜(冻)畜、禽产品
- GB 2716 食品安全国家标准植物油
- GB 2717 食品安全国家标准 酱油
- GB 2720 食品安全国家标准味精
- GB 2721 食品安全国家标准食用盐
- GB 2733 食品安全国家标准鲜、冻动物性水产品
- GB 2760 食品安全国家标准食品添加剂使用标准
- GB 2762 食品安全国家标准食品中污染物限量
- GB 2763 食品安全国家标准食品中农药最大残留限量
- GB 4789.1 食品安全国家标准食品微生物学检验总则
- GB 4789.2 食品安全国家标准食品微生物学检验菌落总数测定
- GB 4789.3 食品安全国家标准食品微生物学检验大肠菌群计数
- GB 4789.4 食品安全国家标准食品微生物学检验沙门氏菌检验
- GB 4789.7 食品安全国家标准食品微生物学检验副溶血性弧菌检验
- GB 4789.10 食品安全国家标准食品微生物学检验金黄色葡萄球菌检验
- GB 4806.7 食品安全国家标准食品接触用塑料材料及制品
- GB 4926 食品安全国家标准红曲米 (粉)
- GB 5009.3 食品安全国家标准食品中水分的测定
- GB 5009.5 食品安全国家标准食品中蛋白质的测定

圖 5009.9 食品安全国家标准食品中淀粉的测定

3 5009.11 食品安全国家标准食品中总砷及无机砷的测定

第3 5009.12 食品安全国家标准食品中铅的测定

GB 5009.15 食品安全国家标准食品中镉的测定

GB 5009.17 食品安全国家标准食品中总汞及有机汞的测定

GB/T 5009.19 食品中有机氯农药多组分残留量的测定

GB 5009.26 食品安全国家标准食品中N-亚硝胺类化合物的测定

GB 5009.28 食品安全国家标准食品中苯甲酸、山梨酸和糖精钠的测定

GB 5009.44 食品安全国家标准食品中氯化物的测定

GB 5009. 123 食品安全国家标准食品中铬的测定

GB 5009.190 食品安全国家标准食品中指示性多氯联苯含量的测定

GB 5749 生活饮用水卫生标准

GB/T 6543 运输包装用单瓦楞纸箱和双瓦楞纸箱

GB 7718 食品安全国家标准预包装食品标签通则

GB 10136 食品安全国家标准动物性水产制品

GB 13104 食品安全国家标准食糖

GB 14881 食品安全国家标准食品生产通用卫生规范

GB/T 17030 食品包装用聚偏二氯乙烯 (PVDC) 片状肠衣膜

GB 20371 食品安全国家标准食品加工用植物蛋白

GB 28050 食品安全国家标准预包装食品营养标签通则

GB 29929 食品安全国家标准食品添加剂乙酰化二淀粉磷酸酯

GB/T 30383-2013 推荐性国家标准生姜

GB 31637 食品安全国家标准食用淀粉 🤈

GH/T 1194 中华全国供销合作总社的行业推荐标准大蒜

Q/ZWST 0001S 十三香

SB/T 10416 调味料酒

JJF 1070 定量包装商品净含量计量检验规则

卫健委(原卫计委)2014 年第6 号《关于批准壳寡糖等6 种新食品原料》的公告及附件 国家质量监督检验检疫总局令第75 号[2005] 定量包装商品计量监督管理办法

国家质量监督检验检疫总局令第123 号[2009] 食品标识管理规定(修订版)

#### 3 质量等级

产品根据质量指标不同分级:特级、优级、普通级。

#### 技术要求

#### 1 原料要求

- 1.1 鲜(冻)畜肉、鲜(冻)禽肉:应符合GB 2707的规定。
- 4.1.2 南瓜籽分离蛋白: 应符合GB 20371的规定。
- 4.1.3 水: 应符合GB 5749的规定。
- 4.1.4 淀粉: 应符合GB 5009.9的规定。
- 4.1.5 白砂糖: 应符合GB-13104的规定。
- 4.1.6 食用盐: 应符合GB 2721的规定。
- 4.1.7 味精: 应符合GB 2720的规定。
- 4.1.8 食用植物油: GB 2716的规定。
- 4.1.9 调味料酒: 应符合SB/T 10416的规定。
- 4.1.10 酱油: 应符合GB 2717的规定
- 4.1.11 山梨酸钾: 应符合GB 1886.39的规定。
- 4.1.12 D-异抗坏血酸钠: 应符合1886.28的规定。
- 4.1.13 红曲粉: 应符合GB 4926的规定。
- 4.1.14 生姜: 应符合GB/T 30383的规定。
- 4.1.15 大蒜: 应符合GH/T 1194的规定。

#### 4.2 感官指标

感官指标应符合表1的要求

#### 表1 咸宁更录

1	
项目	要求
颜色	呈本品应有色泽, 色泽均匀。
组织状态	具有本品应有形态, 软硬适度, 无霉变、无虫 蛀。
滋味、气味	滋味鲜美,咸甜适宜,具有本品固有的滋味及气味,无异味、无酸败味。
杂质	无肉眼可见的外来杂质。

#### 4.3 理化指标

理化指标应符合表2的要求。

表2 理化指标

项目		指标						
		特级	优级	普通级				
水分/(g/100g)	<		70					
氯化物 (以NaC1 计) /(g/100g)	≤	3. 5						
蛋白质/(g/100g)	≥	12	11	10				



淀粉/(g/100g)	<	6	8	10		
铅(以Pb计)/(mg/kg)	<	-	1.0			
镉 (以Cd 计) / (mg/kg)	<		0.1			
甲基汞 (以Hg 计) /(mg/kg)	<		0. 5			
无机砷 (以As 计) /(mg/kg)	< <		0.1			
铬(以Cr 计)/(mg/kg)	≼	2. 0				
N-二甲基亚硝胺/(μg/kg)	<		4.0			
多氯联苯*/(mg/kg)	<		0.5			
六六六/(mg/kg)	<		0.1			
滴滴涕/(mg/kg)	<		0.5			
山梨酸钾(以山梨酸计)/(g/kg)	<		1.0			
*以PCB28、PCB52、PCB101、PCB1	18、PCB13	8、PCB153 7	和PCB180 总和计	ŀ.		

#### 4.4 兽药残留限量

兽药残留限量应符合国家有关规定和公告。

#### 4.5 致病菌限量

致病菌限量应符合表3的要求。

#### 表3 致病菌限量

项目	采样方象	♪ 检验方法			
	n	c	m	M	
菌落总数 (CFU/g)	5	2	104	10 <sup>5</sup>	GB 4789. 2
大肠菌群 (CFU/g)	5	2	10	$10^{2}$	GB 4789.3
沙门氏菌	5	0	0	- 12	GB 4789.4
副溶血性弧菌(MPN/g)	5	1	$10^{2}$	10 <sup>3</sup>	GB 4789.7
金黄色葡萄球菌(CFU/g)	5	1	$10^{2}$	10 <sup>3</sup>	GB 4789.10 第二 注

注: n 为同一批次产品应采集的样品件数; c 为最大可允许超出m 值的样品数; m 为致病菌指标可接受水平的限量值; M 为致病菌指标的最高安全限量值。

\*样品的采集及处理按GB 4789.1执行。

#### 4.6 净含量

应符合国家质量监督检验检疫总局第75号令《定量包装商品计量监督管理办法》的规定。

#### 4.7 食品添加剂

- 4.7.1 食品添加剂质量符合相应的标准和有关规定。
- 4.7.2 食品添加剂的品种及使用量应符合GB 2760 的规定。
- 4.7.3 味精、山梨酸钾、D-异抗坏血酸钠、红曲粉按生产需要适量使用。

#### 5 生产加工过程卫生要求

生产加工过程应符合GB 14881的规定。



取适量样品置于白瓷盘上,在自然光下观察色泽、组织形态和杂质,嗅其气味,用温开水漱口,品 其滋味。

#### 6.2 理化检验

- 6.2.1 水分: 按GB 5009.3 规定的方法检验。
- 6.2.2 氯化物: 按GB 5009.44 规定的方法检验。
- 6.2.3 蛋白质: 按GB 5009.5 规定的方法检验
- 6.2.4 淀粉: 按GB 5009.9 规定的方法检验。
- 6.2.5 铅: 按GB 5009.12 规定的方法检验。
- 6.2.6 镉: 按GB 5009.15 规定的方法检验。
- 6.2.7 甲基汞: 按GB 5009.17 规定的方法检验。
- 6.2.8 无机砷: 按GB 5009.11 规定的方法检验。
- 6.2.9 铬: 按GB 5009.123 规定的方法检验。
- 第09月15日 11点23分 6.2.10 N-二甲基亚硝胺: 按GB 5009.26 规定的方法检验。
- 6.2.11 多氯联苯: 按GB 5009.190 规定的方法检验。
- 6.2.12 六六六、滴滴涕: 按GB/T 5009.19 规定的方法检验。
- 6.2.13 山梨酸: 按GB 5009.28 规定的方法检验。

#### 6.3 微生物检验

- 6.3.1 样品的采样及处理: 按GB 4789.1 规定的方法执行
- 6.3.2 菌落总数: 按GB 4789.2 规定的方法检验。
- 6.3.3 大肠菌群:按GB 4789.3 规定的方法检验。
- 6.3.4 沙门氏菌: 按GB 4789.4 规定的方法检验。
- 6.3.5 副溶血性弧菌: 按GB 4789.7 规定的方法检验。
- 6.3.6 金黄色葡萄球菌: 按GB 4789.10 第二法规定的方法检验。

#### 6.4 净含量

按JJF 1070规定的方法检验。

#### 7 检验规则

#### 7.1 组批

以同一次投料、同一生产线、同一生产班次、包装完好的产品为一批次。

#### 高2产品出厂



每批产品必须经本企业质检部门按本标准规定的方法检验合格,并出具合格证后方准出厂。

#### 第3抽样

从同一组批的合格产品中随机抽取样品,抽样基数不得少于200个最小包装。随机抽取20个最小包装, 样品总量不少于2 kg。样品分成2份, 1 份用于检验, 1 份留样备查。

#### 7.4 产品检验

- 7.4.1 检验分类:产品检验分为出厂检验和型式检验。
- 7.4.2 出厂检验项目:感官要求、净含量、菌落总数、大肠菌群。
- 7.4.3 型式检验项目为本标准所规定的全部项目,一般情况下每半年进行一次。有下列情况之一时,也应进 行型式检验。 09月15日 11点23分
- a) 新产品投产时;
- b) 主要原料来源、关键工艺或设备有明显改变时:
- c) 连续停产三个月以上又恢复生产时;
- d) 产品质量出现明显波动时;
- e) 国家食品安全监管机构提出要求时。

#### 7.5 判定规则

- 7.5.1 检验结果全部符合本标准规定时,则判定该批产品为合格品。
- 7.5.2 如果微生物指标不合格,则判定该批产品不合格。
- 7.5.3 检验结果中,除微生物指标外,有一项或一项以上不符合本标准时,可从该批次产品中加倍抽样复验。 复验结果合格时,则判定该批产品为合格品;复验结果仍有一项或一项以上不合格,则判定该批产品为不合 格品。

#### 8 标志、包装、运输、贮存、保质期

#### 8.1 标志

标志 产品预包装标签标注应符合GB 7718、GB 28050 和《食品标识管理规定(修订版)》的规定,外包装箱储 运图示标志应符合GB/T 191 的要求。

#### 8.2 包装

- 8.2.1 内包装采用塑料肠衣,应符合GB 4806.7 或GB/T 17030 的要求。包装封口应严密、牢固、无破损。
- 8.2.2 外包装采用瓦楞纸箱,应符合GB/T 6543 的要求。

运输的交通工具必须清洁、卫生、干燥、无异味、无污染,严禁与有毒、有害、有异味、易污染的物品 混装、混运。运输时应有防雨、防潮、防晒措施。

#### 8.4 贮存

产品应贮存在清洁、卫生的仓库内,严禁与有害、有毒、有异味物品一起贮存。

#### 8.5 保质期

在符合本标准规定的包装、运输、贮存条件下,且包装完好,产品的保质期不低于120 天。

### Addition G Q/YTBG-0003S-2022 "Pumpkin Seed Protein Isolate Cookies"



### Q/YTBG

## 深圳市易通报关有限公司企业标准 2022年09月21日 09点51分

Q/YTBG-0004S-2022

# 南瓜小. 2022年09月21日 09点51分

2022-09-21 发布

2022-09-22 实施

深圳市易通报关有限公司 发布



本标准根据 GB/T 1.1-2020《标准化工作导则第1部分:标准化文件的结构和起草规则》的规定编写。 本标准的感官指标、水分含量根据产品的特性制定; 铅限量根据 GB 2762《食品安全国家标准 食品 中污染物限量》制定,并严于GB 2762的要求;酸价、过氧化值、菌落总数、大肠菌群、霉菌限量根据GB 7100《食品安全国家标准 饼干》制定; 致病菌限量根据 GB 29921《食品安全国家标准 食品中致病菌限 制定; 其他项目根据自入户本标准由贺州学院、苏梅国立农业大学、深如下本标准起草人: 高丹、Anna 0. Helikh 提出。本标准首次发布日期: 2022 年 9 月 21 日。 量》制定;其他项目根据有关规定编写。

不是不是不是不是不是不是不是一个的。 2022年09月21日 09点513

#### 南瓜籽分离蛋白饼干

#### 1 适用范围

本标准规定了南瓜籽分离蛋白饼干的技术要求、生产加工过程卫生要求、试验方法、检验规则和标志、 包装、运输、贮存等要求。

本标准适用于以南瓜籽分离蛋白粉、低筋小麦粉,鲜鸡蛋,水为主要原料,以食用植物油(非转基因)、 麦芽糖醇、碳酸氢铵为辅料,经配料、搅拌、成型、烘烤、冷却、包装等工序制成的南瓜籽分离蛋白饼干。

#### 2 规范性引用文件

下列文件对于本文件的应用是必不可少的。凡是注日期的引用文件,仅注日期的版本适用于本件。 凡 是不注日期的引用文件,其最新版本(包括所有的修改单)适用于本文件。

- GB/T 191 包装储运图示标志
- GB 1888 食品安全国家标准 食品添加剂 碳酸氢铵
- GB 2716 食品安全国家标准 植物油
- GB 2749 食品安全国家标准 蛋与蛋制品
- GB 2760 食品安全国家标准 食品添加剂使用标准
- GB 2762 食品安全国家标准食品中污染物限量(含第1号修改单)
- GB 2763 食品安全国家标准食品中农药最大残留限量
- GB 4789.1 食品安全国家标准 食品微生物学检验 总则
- GB 4789.2 食品安全国家标准 食品微生物学检验 菌落总数测定
- GB 4789.3 食品安全国家标准 食品微生物学检验 大肠菌群计数
- GB 4789.4 食品安全国家标准 食品微生物学检验 沙门氏菌检验
- GB 4789.10 食品安全国家标准 食品微生物学检验 金黄色葡萄球菌检验
- GB 4789.15 食品安全国家标准食品微生物学检验霉菌和酵母计数
- GB 5009.3 食品安全国家标准食品中水分的测定
- GB 4806.7 食品安全国家标准食品接触用塑料材料及制品
- GB 5009.12 食品安全国家标准 食品中铅的测定
- GB 5009.227 食品安全国家标准食品中过氧化值的测定
- GB 5009. 229 食品安全国家标准食品中酸价的测定
- GB 5749 生活饮用水卫生标准
- GB/T 6543 运输包装用单瓦楞纸箱和双瓦楞纸箱
- GB 7100 食品安全国家标准饼干
- GB/T 8608 食品安全国家标准 低筋小麦粉
- GB 7718 食品安全国家标准 预包装食品标签通则



(ii) 9683 复合食品包装袋卫生标准

3 14881 食品安全国家标准 食品生产通用卫生规范

第 20371 食品安全国家标准 食品加工用植物蛋白

GB 28050 食品安全国家标准 预包装食品营养标签通则

GB 28307 食品安全国家标准 食品添加剂 麦芽糖醇和麦芽糖醇液 (含1号修改单)

JJF 1070 定量包装商品净含量计量检验规则

国家质量监督检验检疫总局第75号令 《定量包装商品计量监督管理办法》

#### 3 技术要求

#### 3.1 原辅料

3.1 原辅料
3.1.1 南瓜籽分离蛋白: 应符合GB 20371的要求
3.1.4 鲜鸡蛋: 应符合GB 2749的要求。
3.1.5 生产用水: 应符合GB 5749的要求。
3.1.6 食用植物油 (非转基因): 应符合GB 2716的要求。

- 主生糠醇: 应符合GB 28307的要求。

#### 3.2 感官指标

感官指标应符合表1的要求。

#### 表1 感官要求

项目	要求	检验方法
颜色	具有该产品应有的正常色泽。	取适量试样置于白瓷盘
组织状态	薄片状,外形完整,花纹清晰、厚薄基本均匀, 不变形无裂痕,结构细密,断面无在孔洞。	中,在自然光下用目测法 进行色泽、组织形态、杂
滋味、气味	口感松脆,不粘牙,甘香可口,回味有南瓜籽应 有的自然香气,无异味。	质等项目检验;取适量试 样,先闻其气味,然后用
杂质	无肉眼可见的外来杂质。	温开水漱口,再品尝试样的滋味。
	09,	5131

#### 3.3 理化指标

理化指标应符合表2的要求。

#### 表2 理化指标

项目		指标
水分/(g/100g)	<	4.0
铅(以Pb计)/(mg/kg)	<	0.4
酸价(以脂肪计)(KOH)/(mg/g)	€	5. 0
过氧化值(以脂肪计)/(g/100g)	<	0. 25

#### 4 致病菌限量



致病菌限量应符合表3的要求。

#### 表3 致病菌限量

项目	采样方案*及限量/(若非指定,均以/25g表示)							
坝日	n	С	m	M				
菌落总数 (CFU/g)	5	2	10 <sup>4</sup>	10 <sup>5</sup>				
大肠菌群 (CFU/g)	5	2	10	10 <sup>2</sup>				
沙门氏菌	5	0	0	-				
金黄色葡萄球菌(CFU/g)	5	1	$10^{2}$	10 <sup>3</sup>				
霉菌 (CFU/g) ≤		•	50	).				

#### 3.5 净含量

应符合国家质量监督检验检疫总局第75号令《定量包装商品计量监督管理办法》的规定。

#### 3.6 食品添加剂

- 3.6.1 食品添加剂的质量应符合相应标准和有关规定。
- 3.6.2 食品添加剂的品种和使用量应符合GB 2760规定。碳酸氢铵根据生产需要适量添加。

#### 4 生产加工过程卫生要求

生产加工过程应符合GB 14881的规定。

#### 5 试验方法

#### 5.1 感官指标

在正常条件下,将样品置于洁净白搪瓷盘中,观察其色泽、组织形态及杂质,闻其气味,尝其滋味。

#### 5.2 理化指标

- 5.2.1 水分: 按GB 5009.3规定的方法检验。
- 5.2.2 铅: 按GB 5009.12规定的方法检验。
- 5.2.3 酸价: 按GB 5009.229规定的方法检验。
- 5.2.4 过氧化值: 按GB 5009.227规定的方法检验。

#### 5.3 微生物

- 5.3.1 菌落总数: 按GB 4789.2规定的方法检验。
- 5.3.2 大肠菌群:按GB 4789.3平板计数法规定的方法检验。
- 5.3.3 沙门氏菌: 按GB 4789.4规定的方法检验。
- 5.3.4 金黄色葡萄球菌:按GB 4789.10第二法规定的方法检验。
- 5.3.5 霉菌: 按GB 4789.15规定的方法检验。

#### 5.4 净含量

按JJF 1070规定的方法检验。

#### â 检验规则

#### 1 组批

以同一投料同一班次生产的同一规格产品为一货批。

#### 6.2 抽样

从同货批产品中按不少于200个独立包装的抽样基数随机抽取样品,样品数量不少于6个最小独立包装, 样品质量不少于1kg。样品分成二份,一份用于检验;另一份留置备查。

#### 6.3 检验

#### 6.3.1 出厂检验

产品须经生产企业质量检验部门检验合格后方可出厂。出厂检验项目包括感官指标、水分、净含量、菌 落总数、大肠菌群和标签。

#### 6.3.2 型式检验

型式检验项目为本标准规定的全部项目,每半年进行一次。有下列情形之一时也应进行型式检验。

- a) 新产品投产时
- b) 连续停产三个月以上,恢复生产时;
- c) 主要原材料来源、关键工艺或设备发生改变时;
- d) 出厂检验结果与上次型式检验有较大差异时;
- e) 国家食品安全监管部门提出要求时。

#### 6.4 判定规则

检验结果如有不合格项,可对原批次产品双倍取样或对留置备查样品复检,复检结果如仍有不合格项, 则判该批产品为不合格品; 微生物指标不合格不得复检。

#### 7 标志、包装、运输、贮存及保质期

#### 7.1 标志

标签应符合GB 7718、GB 28050的规定。包装贮运图示标志应符合GB/T 191的规定。

#### 7.2 包装

产品采用塑料制品或复合食品包装袋包装,包装材料应分别符合GB 4806.7或GB 9683的要求。外包装瓦 楞纸箱应符合GB/T 6543的要求。

#### 7.3 运输

- 7.3.1 运输工具应保持干燥、清洁、平整、无异味;应防止污染。不能影响包装及质量。
- 7.3.2 运输时要防止受热、受潮。
- 7.3.3 运输时应轻装轻卸,平面堆放,防止倾倒、重压,防止包装破碎和产品变形。若有破损时,应及 时加封。
  - 7.3.4 在周转堆放时,应防止日晒雨淋,不得在露天长期堆放,或直接放在地上,以免受潮。

#### 7.4 贮存



产品应存放于通风阴凉、干燥、清洁、无异味的库房中,避免阳光直射。应有防火、防虫、防鼠设度,并应防止农药和其他化学物品污染成品,产品不得与有毒、有腐蚀性、易挥发或恶臭的物品同库储设定,贮存时货物离地面≥20 cm,离墙面≥20 cm。

#### 7.5 保质期

在符合上述文件规定的包装、运输和贮存条件下,且包装完好,产品的保质期不少于12个月,具体按产品包装标注执行。

公开。2022年09月21日 09点51分

公开 2022年09月21日 09点5134

Addition H								
Addition H Certificate of implementation "Technology of sausages using protein isolate from pumpkin seed meal"								
	"Technology of saus							

#### МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ СУМСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ АГРАРНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

У	ЗГОДЖЕНО	ЗАТВЕРДЖУЮ
П	роректор з наукової	OCOBA.77
та	міжнародної діяльностіль	Директор
	жтор економічних на професор	ФОП «Фідон А Ма Андрії
7		мих илов М. Філон
/-	(підтне)	(підпис)
	Car Market Carlot	
	(10)	рік « <u>17</u> » жорын 20 <u>22</u> рік
	THOMAS NOA OA	(Acta)
		AKT
	ВПРОВАДЖЕННЯ Н	НАУКОВО-ДОСЛІДНОЇ РОБОТИ
	Замовник:	ФОП «Філон А. М.»
		(найменування організації)
		директор Філон Андрій Михайлович
		(посада, ПІБ керівника організації)
	Цим актом підтверджується, вп	ровадження результатів роботи виконаних у межах
	наукової держбюджетної тематики:	Розробка технічної документації на білкову сировину
		подвійного призначення (найменування теми)
	Haven Janwanus' nacamaus''.	
	Номер державної реєстрації: Держбюджетна тематика	
	виконується на кафедрі:	Технологій та безпечності харчових продуктів
	Дата виконання держбюджетної	2022 2022 =
	тематики:	2022–2023 p.
	Результати роботи впроваджені на	ФОП «Філон А.М.»
	підприємстві:	(найменування підприємства, де здійснювалось впровадження)
2		технологія ковбасок із використанням ізоляту білка із
1	Вид впроваджених результатів	шроту насіння гарбуза
		(експлуатація виробу, роботи, технології; виробництво виробу, роботи,
2	Характеристика масштабу	технології, функціонування систем)
2	впровадження	дослідно-промислова партія
	Non	(унікальне, одиночне, партія, масове, серійне)
3	Форма впровадження	виробничий випуск
4	Новизна результатів науково-	нові досліджень результати, використана нова сировина, розроблено нову технологію, продукція випускається
5-1 <b>8</b> -0	дослідних робіт	вперше
		(піонерські, принципово нові, якісно нові, модифікація, модернізація старих
	Впроваджені на основі нормативно-	розробок)
5	технічної документації	ТУ У 10.8-04718013-006:2022
		(вказати номер і назву нормативно-технічної документації)
6	Впроваджені в промислове	ФОП «Філон А.М.»
	виробництво	(transa wimnayayana)

7 Рентабельність продукції (Додаток 1)

ефект (Додаток 2)

Соціальний і науково-технічний

35 %

(характеристика прибутковості господарської діяльності підприємства від реалізації дослідно-промислової партії)

розроблені ковбаски рекомендовано використовувати як самостійний харчовий продукт, так і у складі кулінарної продукції в закладах ресторанного господарства та підприємствах харчової промисловості (холодні та гарячі закуски, салати, виробів із борошна), які значно розширять асортимент готової продукції збагаченої повноцінним білком і можуть бути реалізовані в оптовій та роздрібній торгівлі.

(використання в харчовій промисловості та реалізація населенню)

9 Удосконалено виробництво та доведено економічний ефект від випуску та реалізації досліднопромислової партія розміром 30 кг. До акту додається розрахунок економічного ефекту (Додаток 1)

10 До акту додається довідка про соціальний ефект від впровадження результатів науково-дослідної роботи (Додаток 2)

Співвласниками акту впровадження науково-дослідної роботи є Сумський національний аграрний 11 університет та Університет Хечжоу, Китай (Food and Bioengineering department of Hezhou University, China)

ВІД ЗАКЛАДУ ОСВІТИ

ВІД ПІДПРИЄМСТВА

Директор ФОПусФјлон А. Моб А. П.

А.О. Геліх

(ініціали, прізвище)

Аспірант

(підпис)

Gow Dom

Керівник роботи

Гао Дан

(ініціали, прізвище)

Завідувач кафедрою

жини М.М. Самілик (підпис) (ініціали, прізвище)

YKPATH

Андрій

**Лихай**лови

А.М. Філон

иніали, прізвище)

#### Довідка

щодо економічного ефекту від випуску та реалізації дослідно-промислової партії за темою:

Розробка технічної документації на білкову сировину подвійного призначення

Геліх А.О., к. т. н., доцент кафедри технологій та **Керівник роботи:** безпечності харчових продуктів Сумського національного аграрного університету

Аспірант: Гао Дан, ст. викладач кафедри харчування та біоінженерії Університету Хечжоу, Китай

Номер державної реєстрації: 0 1 2 2 U 2 0 I 3 8 8

Економічний ефект від виконання науково-дослідної роботи «Розробка технічної документації на білкову сировину подвійного призначення» полягає у розробці технології ізоляту білка із шроту насіння гарбуза для використання у складі харчової та кулінарної продукції, а саме, технології ковбасок, що розширить асортимент готової продукції із підвищеною біологічною цінністю та зниженою калорійністю.

Ковбаски із використанням ізоляту білка із шроту насіння гарбуза виробили у кількості 30 кг, як дослідно-промислову партію.

Економічний ефект від випуску та реалізації дослідно-промислової партії визначали за показником рентабельності продукції, що склав 35 %. Рентабельність продукції визначали як відношення чистого прибутку від реалізації до собівартості продукції враховуючи об'єм дослідно-промислової партії.

Під час виробництва та реалізації населенню була апробована та оптимізована нова рецептура ковбасок.

Ковбаски із використанням ізоляту білка із шроту насіння гарбуза є високоякісними, безпечними, з високими органолептичними показниками та рекомендуються для використання у дитячому та дієтичному харчуванні.

ФІЛОН Андрій

KPATH

ЗАТВЕРДЖУЮ

Директор ФОП «Філон А.М.»

THE PERION A.M.S

А.М. Філон (ініціали, прізвище)

20**22** pik

COBMUR

(дата)

#### Довідка

щодо соціального ефекту від впровадження результатів науково-дослідної роботи за темою:

Розробка технічної докум	ентаці	і на біл	ІКОВ	у сі	<b>чров</b>	ину по	двино	ОП	ризнач	нення	
	Геліх	A.O.,	, к.	т.	н.,	доцен	т кафе	дри	техн	ологій	та
Керівник роботи:	безпечності				харчових продуктів Сумського						ого
	національного аграрного університету										
Agrican	Гао	Дан,	ст.	В	икла	адач	кафедр	И	харчу	вання	та
Аспірант:	біоіна	кенері	ї Ун	івер	осит	ету Хе	чжоу, К	Сита	й		
Номер державної реєстрації:	0	1	2	2	(	12	0	1	3	8	8

Соціальний ефект від виконання науково-дослідної роботи «Розробка технічної документації на білкову сировину подвійного призначення» полягає у розробці технології ізоляту білка із шроту насіння гарбуза для використання у складі харчової та кулінарної продукції, а саме, технології ковбасок, що розширить асортимент готової продукції із підвищеною біологічною цінністю та зниженою калорійністю.

Ковбаски із використанням ізоляту білка із шроту насіння гарбуза  $\varepsilon$  економічно доступними для широких верств населення з різним рівнем доходу, можуть бути використані у дієтичному та дитячому харчуванні.

Андрів

ЗАТВЕРДЖУЮ

Директор

«17 »

ФОИ «Філон А.М.»

А.М. Філон

(ініціали, прізвище)

UCOBMH 8

2022 рік

# Addition I Certificate of implementation "Technology of biscuits using protein isolate from pumpkin seed meal"

#### МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ СУМСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ АГРАРНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

У	ЗГОДЖЕНО	ЗАТВЕРДЖУЮ							
П	роректор з наукової	A DO BA TIATA							
	міжнародної діздвиссят,	Директор							
	A A SKINION A 4	ΦΟΠΑΦΙΝΟΙ AMINI							
4	октор економічних виух, професор	AHUJOBUL							
/_	HXI Hausto	<b>А.М.</b> Філон							
	(підпис) (1 мпаза Летзвище)	(підпис) (інімали, прізвище)							
	« <u>18</u> »	рік «1 <del>7</del> » жылд 2022 рік							
	Tax Tyle noa	(дата)							
		AKT							
	ВПРОВАДЖЕННЯ Н	ІАУКОВО-ДОСЛІДНОЇ РОБОТИ							
	Замовник:								
		(найменування організації)							
		директор Філон Андрій Михайлович							
		(посада, ППБ керівника організації)							
	Цим актом підтверджується, впр	ровадження результатів роботи виконаних у межах							
	наукової держбюджетної тематики:	Розробка технічної документації на білкову сировину							
	под подпата подменного пенатики.	подвійного призначення							
		(найменування теми)							
	Номер державної реєстрації:	012201388							
	Держбюджетна тематика	Технологій та безпечності харчових продуктів							
	виконується на кафедрі:	технологи та остичності харчових продуктів							
	Дата виконання держбюджетної тематики:	2022–2023 p.							
	Результати роботи впроваджені на	*							
	підприємстві:	ФОП «Філон А.М.»							
	- Company of the Comp	(найменування підприємства, де здійснювалось впровадження)							
1	D	технологія печива бісквітного із використанням ізоляту							
1	Вид впроваджених результатів	білка із шроту насіння гарбуза							
		(експлуатація виробу, роботи, технології; виробництво виробу, роботи,							
	Характеристика масштабу	технології, функціонування систем)							
2	впровадження	дослідно-промислова партія							
		(унікальне, одиночне, партія, масове, серійне)							
3	Форма впровадження	виробничий випуск							
	Новизна результатів науково-	нові досліджень результати, використана нова сировина,							
4	дослідних робіт	розроблено нову технологію, продукція випускається							
	(1.50) - 1550 (1.50) (	вперше							
		(піонерські, принципово нові, якісно нові, модифікація, модернізація старих розробок)							
5	Впроваджені на основі нормативно-	ТУ У 10.8-04718013-006:2022							
	технічної документації								
	P	(вказати номер і назву нормативно-технічної документації)							
6	Впроваджені в промислове	ФОП «Філон А.М.»							
	виробництво	(цазва пілприсметва)							

Рентабельність продукції (Додаток 1)

ефект (Додаток 2)

Соціальний і науково-технічний

53

розроблене печиво бісквітне

(характеристика прибутковості господарської діяльності підприємства від реалізації дослідно-промислової партії) рекомендовано використовувати як самостійний харчовий продукт, так і у складі кулінарної продукції в закладах ресторанного господарства та підприємствах харчової промисловості (холодні та гарячі закуски, кондитерські вироби), які значно розширять асортимент готової продукції збагаченої повноцінним білком і можуть бути реалізовані в оптовій та роздрібній торгівлі.

(використання в харчовій промисловості та реалізація населенню)

Удосконалено виробництво та доведено економічний ефект від випуску та реалізації досліднопромислової партія розміром 30 кг. До акту додається розрахунок економічного ефекту (Додаток 1)

До акту додається довідка про соціальний ефект від впровадження результатів науково-дослідної роботи (Додаток 2)

Співвласниками акту впровадження науково-дослідної роботи є Сумський національний аграрний 11 університет та Університет Хечжоу, Китай (Food and Bioengineering department of Hezhou University, China)

ВІД ЗАКЛАДУ ОСВІТИ

ВІД ПІДПРИЄМСТВА

ФОП Філон А.М.»

(підпис)

Директор

Керівник роботи

А.О. Геліх

(ініціали, прізвище)

Аспірант

Гао Дан

(ініціали, прізвище)

Завідувач кафедрою

М.М. Самілик (ініціали, прізвище)

М. Філон

никами, прізвище)

Андрій

#### Довідка

щодо економічного ефекту від випуску та реалізації дослідно-промислової партії за темою:

Розробка технічної документації на білкову сировину подвійного призначення

 Керівник роботи:

 Керівник роботи:
 Безпечності харчових продуктів Сумського національного аграрного університету

 Аспірант:
 Гао Дан, ст. викладач кафедри харчування та біоінженерії Університету Хечжоу, Китай

 Номер державної реєстрації:
 0 1 2 2 0 1 3 8 8

Економічний ефект від виконання науково-дослідної роботи «Розробка технічної документації на білкову сировину подвійного призначення» полягає у розробці технології ізоляту білка із шроту насіння гарбуза для використання у складі харчової та кулінарної продукції, а саме, технології печива бісквітного, що розширить асортимент готової продукції із підвищеною біологічною цінністю та зниженою калорійністю.

Печиво бісквітне із використанням ізоляту білка із шроту насіння гарбуза виробили у кількості 30 кг, як дослідно-промислову партію.

Економічний ефект від випуску та реалізації дослідно-промислової партії визначали за показником рентабельності продукції, що склав 53 %. Рентабельність продукції визначали як відношення чистого прибутку від реалізації до собівартості продукції враховуючи об'єм дослідно-промислової партії.

Під час виробництва та реалізації населенню була апробована та оптимізована нова рецептура печива бісквітного.

Печиво бісквітне із використанням ізоляту білка із шроту насіння гарбуза  $\epsilon$  високоякісним, безпечним, з високими органолептичними показниками та рекомендується для використання у дієтичному, дитячому та вегетаріанському харчуванні.

**ЫЛОН** 

Андрій

ЗАТВЕРДЖУЮ

Директор

«17»

ФОП/«Філон А.М.»

А.М. Філон

(ініціали, прізвище)

08 мия 20 12 рік

#### Довідка

щодо соціального ефекту від впровадження результатів науково-дослідної роботи за темою:

Розробка технічної докум	ентаці	ї на біл	ІКОВ	y cı	иров	вину под	цвійно	го пј	ризнач	ення	
	Геліх	A.O.	к.	т.	н.,	доцент	кафе	дри	техно	ологій	і та
Керівник роботи	безпе	чності		xa	рчов	зих	проду	ктів	C	умсы	СОГО
	націо	нально	ого а	агра	рно	го уніве	ерсите	гу			
Аспірант:	Гао	Дан,	CT.	В	икла	адач н	сафедр	И	харчув	вання	та
біоінженерії Університету Хечжоу, Китай									й		
Номер державної реєстрації:	0	1 .	2	2	l	1 2	0	1	3	8	8

Соціальний ефект від виконання науково-дослідної роботи «Розробка технічної документації на білкову сировину подвійного призначення» полягає у розробці технології ізоляту білка із шроту насіння гарбуза для використання у складі харчової та кулінарної продукції, а саме, технології печива бісквітного, що розширить асортимент готової продукції із підвищеною біологічною цінністю та зниженою калорійністю. Печиво бісквітне із використанням ізоляту білка із шроту насіння гарбуза  $\epsilon$  економічно доступним для широких верств населення з різним рівнем доходу, може бути використане у дієтичному, дитячому та вегетаріанському харчуванні.

ЗАТВЕРДЖУЮ
Директор
ФОИ «Філон А.М.»

А.М. Філон
Андрій
Михайловиче

(підпис)

#### Addition J

Certificate of implementation "Technology of pork sausages using concentrated taro products"

#### МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ СУМСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ АГРАРНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

УЗГОДЖЕНО	ЗАТВЕРДЖУЮ						
Проректор з наукової	ФІЛОН						
та міжнародної діяльності	Директор Андрій						
000110 74	ФОП «Філон А.М						
доктор економичних наук, професор	69082						
O. Athro	А.М. Філон						
(Hilliam and Same)	(підпис) (ініціали, прізвище)						
«06» 02 2023 p	iк « <u>30</u> » <u>сілие</u> 20 <u>23</u> рік						
(Auta)	(дата)						
White was the							
	AKT						
	АУКОВО-ДОСЛІДНОЇ РОБОТИ						
Замовник:	ФОП «Філон А. М.»  (найменування організації)						
	директор Філон Андрій Михайлович						
	(посада, ПІБ керівника організації)						
Цим актом підтверджується, впр	ровадження результатів роботи виконаних у межах						
	Розробка технічної документації на напівфабрикат з						
наукової держбюджетної тематики:	рослинної сировини для м'ясних фаршевих виробів подвійного призначення						
	(найменування теми)						
Номер державної реєстрації:	012202024						
Держбюджетна тематика	0 1 2 2 0 2 0 2 0 2 9						
виконується на кафедрі:	Технологій та безпечності харчових продуктів						
Дата виконання держбюджетної	2022 2022						
тематики:	2022–2023 p.						
Результати роботи впроваджені на	ФОП «Філон А.М.»						
підприємстві:							
	(найменування підприємства, де здійснювалось впровадження)						
1 Вид впроваджених результатів	технологія ковбасок зі свинини із використанням						
The second of the control of the con	продуктів із таро концентрованих  (експлуатація виробу, роботи, технології; виробництво виробу, роботи,						
	технології, функціонування систем)						
2 Характеристика масштабу	дослідно-промислова партія						
впровадження							
	(унікальне, одиночне, партія, масове, серійне)						
3 Форма впровадження	виробничий випуск						
4 Новизна результатів науково-	використана нова сировина, розроблено нову технологію, нові досліджені результати, продукція випускається						
ч дослідних робіт	вперше						
	(піонерські, принципово нові, якісно нові, модифікація, модернізація старих						
Впроватурні на сонові новматурна	розробок)						
5 Впроваджені на основі нормативно- технічної документації	ТУ У 10.3-04718013-008:2022						
To Author Authoritation	(вказати номер і назву нормативно-технічної документації)						

6	6 впроваджені в промислове виробництво		ФОП «Філон А.М.» (назва підприємства)							
7	7 Рентабельність продукції (Додаток 1)		37 %							
	900,110 B		(характеристика прибутковості господарської діяльності підприємства від реалізації дослідно-промислової партії)							
			розроблені ковбаски зі свинини рекомендовано							
			використовувати як самостійний харчовий продукт, так у складі кулінарної продукції в закладах ресторанного							
	Соціальний і на	уково-технічний	господарства та підприємствах харчової промисловості							
8	8 ефект (Додаток 2)		(холодні та гарячі закуски, салати, виробів із борошна), як							
			значно розширять асортимент готової продукції							
			збагаченої харчовими волокнами та рослинним білком і							
			можуть бути реалізовані в оптовій та роздрібній торгівлі. (використання в харчовій промисловості та реалізація населенню)							
	Улосконалено ви	иробништво та ловеле	ено економічний ефект від випуску та реалізації дослідно-							
9			акту додається розрахунок економічного ефекту (Додаток 1)							
10			ний ефект від впровадження результатів науково-дослідно							
10	роботи (Додаток									
11			нуково-дослідної роботи є Сумський національний аграрний Китай (School of Food and Biological Engineering, Hezhou							
11	University, Hezho		Karaa (School of Pood and Diological Engineering, Hezhou							
ріп	ЗАКЛАДУ ОСВІ	ти	ВІД ПІДПРИЄМСТВА							
ыд	закладу осы	III	Директор							
Кер	івник роботи		ФОП «Філон А.М.»							
	Luhn	А.О. Геліх	А.М. Філон							
	(підпис)	(ініціали, прізвище)	(підпис) (підпис)							
Асп	ірант		OIA OIL							
C.	m Down	Гоо Пот	AHOTOBUT AHOTOBUT							
010	(підпис)	Гао Дан (ініціали, прізвище)								
	Accessor and A	(misiam, npismino)	The state of the s							
Асп	ірант		YKPALIDA							
sha	ng felfei	Шань Фейфей								
	(withing)	(ініціали, прізвище)								
Заві	дувач кафедрою									
$\Omega$	and A									

М.М. Самілик (ініціали, прізвище)

#### Довідка

щодо економічного ефекту від випуску та реалізації дослідно-промислової партії за темою:

Розробка технічної документації на напівфабрикат з рослинної сировини для м'ясних фаршевих виробів подвійного призначення

* *			100								
	Геліз	κ A.	О., к	. т.	н.,	доцент	каф	едри	тех	нолог	ій та
Керівник роботи:	безпечності харчових продуктів Сумського										
	націо	онал	ьного	агра	рног	го уніве	рсите	ту			
Аспірант:	Гао					адач к	670-			ванн	я та
p	біоін	жен	ерії У	нівер	осите	ету Хеч	жоу,	Кита	й		
Номер державної реєстрації:	0	1	2	2	L	1 2	0	2	0	2	4

Економічний ефект від виконання науково-дослідної роботи «Розробка технічної документації на напівфабрикат з рослинної сировини для м'ясних фаршевих виробів подвійного призначення» полягає у розробці технології продуктів із таро концентрованих для використання у складі харчової та кулінарної продукції, а саме, технології ковбасок зі свинини, що розширить асортимент готової продукції із зниженою калорійністю та підвищеною біологічною цінністю.

Ковбаски зі свинини із використанням продуктів із таро концентрованих виробили у кількості 30 кг, як дослідно-промислову партію.

Економічний ефект від випуску та реалізації дослідно-промислової партії визначали за показником рентабельності продукції, що склав 37 %. Рентабельність продукції визначали як відношення чистого прибутку від реалізації до собівартості продукції враховуючи об'єм дослідно-промислової партії.

Під час виробництва та реалізації населенню була апробована та оптимізована нова рецептура ковбасок зі свинини.

Ковбаски зі свинини із використанням продуктів із таро концентрованих  $\varepsilon$  високоякісними, безпечними, з високими органолептичними показниками та рекомендуються для використання у харчуванні.

ЗАТВЕРДЖУЮ

Директор ФОП ДФілон А.М.»

А.М. Філон (ініціали, прізвище)

(дата)

20<u>23</u> рік

#### Довідка

щодо соціального ефекту від впровадження результатів науково-дослідної роботи за темою:

Розробка технічної документації на напівфабрикат з рослинної сировини для м'ясних фаршевих виробів подвійного призначення

<b>A</b>	Геліх	A.O.	, к.	т.	н.,	доцент	кафед	ри	техі	нологій	і та
Керівник роботи:					рчов					умського	
	національного аграрного університ					рситету	7				
A	Гао	Дан,	CT.	В	икла	адач к	афедри	2	карчу	вання	та
Аспірант:	біоін	женері	ї Ун	івер	осит	ету Хеч	жоу, Ки	та	й		
Номер державної реєстрації:	0	1	2	2	U	1 2	0.	2	0	2	4

Соціальний ефект від виконання науково-дослідної роботи «Розробка технічної документації на напівфабрикат з рослинної сировини для м'ясних фаршевих виробів подвійного призначення» полягає у розробці технології продуктів із таро концентрованих для використання у складі харчової та кулінарної продукції, а саме, технології ковбасок зі свинини, що розширить асортимент готової продукції із зниженою калорійністю та підвищеною біологічною цінністю.

Ковбаски зі свинини із використанням продуктів із таро концентрованих  $\varepsilon$  економічно доступними для широких верств населення з різним рівнем доходу, можуть бути використані у харчуванні.

Андрій

ЗАТВЕРДЖУЮ

Директор

Філон А.М.»

А.М. Філон (ініціали, прізвище)

(дата)

20\_23 рік

#### Addition K

Certificate of implementation "Technology of meat pate using protein isolate from pumpkin seed meal"

#### МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ СУМСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ АГРАРНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

УЗ	ВГОДЖЕНО	ЗАТВЕРДЖУЮ							
Пр	ооректор з наукової	A COBA-NIANA							
та	міжнародної діяльності,	Директор							
	ктор економ и наук професор	ФОП «Філа А.М.»рій							
	and the same of th	Нихейлович							
1-	(піднис) Данько прізвище)	(підпис) А.М. Філон (підпис)							
	« <u>18</u> » 20 <u>22</u> 2	рік «17» жельня 2022 рік							
	13 on 1	(дата)							
	THE RESERVE TO SERVE THE PARTY OF THE PARTY	AKT							
	ВПРОВАЛЖЕННЯ Н	АКТ АУКОВО-ДОСЛІДНОЇ РОБОТИ							
	Замовник:								
		(найменування організації)							
		директор Філон Андрій Михайлович							
		(посада, ПІБ керівника організації)							
	Цим актом підтверджується, впр	ровадження результатів роботи виконаних у межах							
	наукової держбюджетної тематики:	Розробка технічної документації на білкову сировину							
	паукової держоюджетної тематики.	подвійного призначення							
		(найменування теми)							
	Номер державної реєстрації:	0 1 2 2 0 2 0 1 3 8 8							
	Держбюджетна тематика виконується на кафедрі:	Технологій та безпечності харчових продуктів							
	Дата виконання держбюджетної тематики:	2022–2023 p.							
	Результати роботи впроваджені на підприємстві:	ФОП «Філон А.М.»							
		(найменування підприємства, де здійснювалось впровадження)							
1	Вид впроваджених результатів	технологія м'ясного паштету із використанням ізоляту							
- 3	2 position position	білка із шроту насіння гарбуза (експлуатація виробу, роботи, технології; виробництво виробу, роботи,							
		(експлуатація вирооу, роооти, технології; вирооництво вирооу, роооти, технології, функціонування систем)							
2	Характеристика масштабу впровадження	дослідно-промислова партія							
		(унікальне, одиночне, партія, масове, серійне)							
3	Форма впровадження	виробничий випуск							
11.500	Новизна результатів науково-	нові досліджень результати, використана нова сировина,							
4	дослідних робіт	розроблено нову технологію, продукція випускається							
		вперше (піонерські, принципово нові, якісно нові, модифікація, модернізація							
		старих розробок)							
5	Впроваджені на основі нормативно- технічної документації	ТУ У 10.8-04718013-006:2022							
		(вказати номер і назву нормативно-технічної документації)							
6	Впроваджені в промислове виробництво	ФОП «Філон А.М.»							
		(назва пілписметва)							

Рентабельність продукції (Додаток 1) 43 (характеристика прибутковості господарської діяльності підприємства від реалізації дослідно-промислової партії) рекомендовано розроблений м'ясний паштет використовувати як самостійний харчовий продукт, так і у складі кулінарної продукції в закладах ресторанного господарства та підприємствах харчової промисловості Соціальний і науково-технічний (холодні та гарячі закуски, салати, виробів із борошна), ефект (Додаток 2) які значно розширять асортимент готової продукції збагаченої повноцінним білком і можуть бути реалізовані в оптовій та роздрібній торгівлі. (використання в харчовій промисловості та реалізація населенню) Удосконалено виробництво та доведено економічний ефект від випуску та реалізації досліднопромислової партія розміром 30 кг. До акту додається розрахунок економічного ефекту (Додаток 1) До акту додається довідка про соціальний ефект від впровадження результатів науково-дослідної 10 роботи (Додаток 2) Співвласниками акту впровадження науково-дослідної роботи є Сумський національний аграрний університет та Університет Хечжоу, Китай (Food and Bioengineering department of Hezhou University, China) ВІД ПІДПРИЄМСТВА ВІД ЗАКЛАДУ ОСВІТИ Директор Керівник роботи ФОП Фідон А.М.» М. Філон А.О. Геліх (ініціали, прізвище) (підпис) (циали, прізвище) (підпис) Аспірант Андрій ихайлови Гао Дан

(ініціали, прізвище)

М.М. Самілик (ініціали, прізвище)

Завідувач кафедрою

щодо економічного ефекту від випуску та реалізації дослідно-промислової партії за темою:

Розробка технічної документації на білкову сировину подвійного призначення

Геліх А.О., к. т. н., доцент кафедри технологій та Керівник роботи: безпечності харчових продуктів Сумського національного аграрного університету Дан, ст. викладач кафедри харчування Аспірант: біоінженерії Університету Хечжоу, Китай Номер державної реєстрації: 1

Економічний ефект від виконання науково-дослідної роботи «Розробка технічної документації на білкову сировину подвійного призначення» полягає у розробці технології ізоляту білка із шроту насіння гарбуза для використання у складі харчової та кулінарної продукції, а саме, технології м'ясного паштету, що розширить асортимент готової продукції із підвищеною біологічною цінністю та зниженою калорійністю.

М'ясний паштет із використанням ізоляту білка із шроту насіння гарбуза виробили у кількості 30 кг, як дослідно-промислову партію.

Економічний ефект від випуску та реалізації дослідно-промислової партії визначали за показником рентабельності продукції, що склав 43 %. Рентабельність продукції визначали як відношення чистого прибутку від реалізації до собівартості продукції враховуючи об'єм дослідно-промислової партії.

Під час виробництва та реалізації населенню була апробована та оптимізована нова рецептура м'ясного паштету.

М'ясний паштет із використанням ізоляту білка із шроту насіння гарбуза є з високими органолептичними показниками безпечним, рекомендується для використання у дитячому та дієтичному харчуванні.

Андрій

ЗАТВЕРДЖУЮ

Директор

фоти «Філон А.М.»

А.М. Філон (ініціали, прізвище)

щодо соціального ефекту від впровадження результатів науково-дослідної роботи за темою:

Розробка технічної докум	ентаці	ї на біл	КОВ	y cı	<b>чров</b>	ину под	цвійного	призн	начення	
	Геліх	A.O.,	K.	т.	н.,	доцент	г кафедр	и те	хнологій	та
Керівник роботи:	и: безпечності х				харчових		продуктів		Сумського	
	національного аграрного університету									
Аспірант:	Гао	Дан,	ст.	В	икла	адач н	сафедри	xapt	нування	та
Acmpant.	біоін	женеріі	і Ун	івер	осит	ету Хеч	іжоу, Кит	гай		
Номер державної реєстрації:	0	1	2	2		U 2	0	1 3	3 8	8

Соціальний ефект від виконання науково-дослідної роботи «Розробка технічної документації на білкову сировину подвійного призначення» полягає у розробці технології ізоляту білка із шроту насіння гарбуза для використання у складі харчової та кулінарної продукції, а саме, технології м'ясного паштету, що розширить асортимент готової продукції із підвищеною біологічною цінністю та зниженою калорійністю. М'ясний паштет із використанням ізоляту білка із шроту насіння гарбуза є економічно доступним для широких верств населення з різним рівнем доходу, може бути використаний у дієтичному та дитячому харчуванні.

Андрій

ЗАТВЕРДЖУЮ

Директор ФОИ «Філон А.М.»

> (піднис) «17 »

А.М. Філон (ініціали, прізвище)

MCOS MH)

20<u>22</u>рік

# Addition L Certificate of implementation "Technology of duck meat sausages using concentrated taro products"

# МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ СУМСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ АГРАРНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

У3	ВГОДЖЕНО	ЗАТВЕРДЖУЮ БА ПИД							
Пр	оректор з наукової	Директор дандый							
та	міжнародної діяльності	ФОП «Фрин А.М. В ович							
до	ктор економічних наук професор	ΦΟΠ «ΦΕΡΙΟΗ Α.M:»							
/	Quality of the state of the sta	А.М. Філон							
	(підпис)	(підпис)							
	«06» 2013p	iк «30» chul 2023 рiк							
	Mara)	(дата)							
	AUGUST ON THE STATE OF THE STAT								
		AKT							
		АУКОВО-ДОСЛІДНОЇ РОБОТИ							
	Замовник:	ФОП «Філон А. М.» (найменування організації)							
		директор Філон Андрій Михайлович (посада, ПІБ керівника організації)							
	П								
	цим актом підтверджується, впр	овадження результатів роботи виконаних у межах Розробка технічної документації на напівфабрикат з							
	наукової держбюджетної тематики:	рослинної сировини для м'ясних фаршевих виробів							
	,,	подвійного призначення							
		(найменування теми)							
	Номер державної реєстрації:	0 1 2 2 0 2 0 2 0 2 4							
	Держбюджетна тематика	Технологій та безпечності харчових продуктів							
	виконується на кафедрі:	Textionorm to desire moett sup tobak apody kitib							
	Дата виконання держбюджетної тематики:	2022–2023 p.							
	Результати роботи впроваджені на	The revenue of the second of							
	підприємстві:	ФОП «Філон А.М.»							
		(найменування підприємства, де здійснювалось впровадження)							
1	Вид впроваджених результатів	технологія ковбасок з м'яса качки із використанням							
	r	продуктів із таро концентрованих (експлуатація виробу, роботи, технології; виробництво виробу, роботи,							
		технології, функціонування систем)							
2	Характеристика масштабу	дослідно-промислова партія							
	впровадження	(унікальне, одиночне, партія, масове, серійне)							
3	Форма впровадження	виробничий випуск							
	1 <del>40</del> 1 <del>4</del> 7 000	використана нова сировина, розроблено нову технологію,							
4	Новизна результатів науково- дослідних робіт	нові досліджені результати, продукція випускається							
	дослідних роогі	вперше							
		(піонерські, принципово нові, якісно нові, модифікація, модернізація старих розробок)							
5	Впроваджені на основі нормативно- технічної документації	ТУ У 10.3-04718013-008:2022							
	555 570 0	(вказати номер і назву нормативно-технічної документації)							

6	Впроваджені в пр виробництво	омислове	ФОП «Філон А.М.»						
	J. P. C. L.		(назва підприємства)						
7 Рентабельність продукції (Додаток 1)		родукції	21 %						
			(характеристика прибутковості господарської діяльності підприємства від реалізації дослідно-промислової партії) розроблені ковбаски з м'яса качки рекомендовано						
	Соціальний і нау	MARA TOVIČNIMA	використовувати як самостійний харчовий продукт, так у складі кулінарної продукції в закладах ресторанного господарства та підприємствах харчової промисловості						
8	Соціальний і науково-технічний ефект (Додаток 2)		(холодні та гарячі закуски, салати, виробів із борошн які значно розширять асортимент готової продук збагаченої харчовими волокнами та рослинним білком можуть бути реалізовані в оптовій та роздрібній торгів (використання в харчовій промисловості та реалізація населенню)						
9	промислової парті	я розміром 30 кг. До а	но економічний ефект від випуску та реалізації дослідно- акту додається розрахунок економічного ефекту (Додаток 1)						
10	роботи (Додаток 2	)	ний ефект від впровадження результатів науково-дослідної						
11	університет та Ун University, Hezhou	піверситет Хечжоу,	уково-дослідної роботи є Сумський національний аграрний Китай (School of Food and Biological Engineering, Hezhou						
ВІД	(ЗАКЛАДУ ОСВІТ	И	ВІД ПІДПРИЄМСТВА						
Ker	оівник роботи		Директор						
_	behr	А.О. Геліх	ФОП «Філон А.М.» А.М. Філон						
Acr	(підпис) пірант	(ініціали, прізвище)	(підпис) (підпис) (підпис) (підпис)						
Go	підпис)	Гао Дан (ініціали, прізвище)	Muxau100						
Асг	пірант		* YKPAINIA						
sha	ng feifei	Шань Фейфей (ініціали, прізвище)	myst.						
Зав	ідувач кафедрою								
all	(niamo)	М.М. Самілик (ініціали, прізвище)							

щодо економічного ефекту від випуску та реалізації дослідно-промислової партії за темою:

Розробка технічної документації на напівфабрикат з рослинної сировини для м'ясних фаршевих виробів подвійного призначення

Керівник роботи:		А.О.						-		нологіі Сумсь	
nepionin povorni	роботи: безпечності харчових продуктів С національного аграрного університету							Сумов	KOI O		
Аспірант:	Аспірант: Гао Дан, ст. викладач кафедри харчуван біоінженерії Університету Хечжоу, Китай						вання	та			
Номер державної реєстрації:		1	2	2	l	1 2	0	2	0	2	4

Економічний ефект від виконання науково-дослідної роботи «Розробка технічної документації на напівфабрикат з рослинної сировини для м'ясних фаршевих виробів подвійного призначення» полягає у розробці технології продуктів із таро концентрованих для використання у складі харчової та кулінарної продукції, а саме, технології ковбасок з м'яса качки, що розширить асортимент готової продукції із зниженою калорійністю та підвищеною біологічною цінністю.

Ковбаски з м'яса качки із використанням продуктів із таро концентрованих виробили у кількості 30 кг, як дослідно-промислову партію.

Економічний ефект від випуску та реалізації дослідно-промислової партії визначали за показником рентабельності продукції, що склав 21 %. Рентабельність продукції визначали як відношення чистого прибутку від реалізації до собівартості продукції враховуючи об'єм дослідно-промислової партії.

Під час виробництва та реалізації населенню була апробована та оптимізована нова рецептура ковбасок з м'яса качки.

Ковбаски з м'яса качки із використанням продуктів із таро концентрованих є високоякісним, безпечним, 3 високими органолептичними показниками рекомендується для використання у дитячому та дієтичному харчуванні.

ЗАТВЕРДЖУЮ

Директор

ФОП «Філон А.М.»

А.М. Філон (ініціали, прізвище)

щодо соціального ефекту від впровадження результатів науково-дослідної роботи за темою:

Розробка технічної документації на напівфабрикат з рослинної сировини для м'ясних фаршевих виробів подвійного призначення

	Геліу	ΔΩ	v	T	ш	попен	r vahe	Thu	Tevu	ологіі	я́ то
Керівник роботи:	безпечності ха				г. н., доцент кафедри карчових продуктів			(655			
	національного аграрного університету										
Аспірант:							кафедри			вання	та
Acmpani.	біоін	женеріі	Ун	івер	осит	ету Хеч	іжоу, К	итай	ă		
Номер державної реєстрації:	0	1 .	2	2	1	1 2	0	2	0	2	4

Соціальний ефект від виконання науково-дослідної роботи «Розробка технічної документації на напівфабрикат з рослинної сировини для м'ясних фаршевих виробів подвійного призначення» полягає у розробці технології продуктів із таро концентрованих для використання у складі харчової та кулінарної продукції, а саме, технології ковбасок з м'яса качки, що розширить асортимент готової продукції із зниженою калорійністю та підвищеною біологічною цінністю.

Ковбаски з м'яса качки із використанням продуктів із таро концентрованих є економічно доступним для широких верств населення з різним рівнем доходу, може бути використаний у дієтичному та дитячому харчуванні.

ЗАТВЕРДЖУЮ

Директор

ФОП «Філон А.М.»

А.М. Філон

(ініціали, прізвище)

(дата)

Addition M
Certificate of implementation "Technology of sausages using protein isolate from pumpkin seed meal"

# МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ СУМСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ АГРАРНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

У3	ГОДЖЕНО	ЗАТВЕРДЖУЮ					
Пр	оректор з наукової						
та	міжнародної діяльності,	Директор					
	ктор економі зних Ігаух, професор	ФОП Кинменко Л.О.»					
7	44 000	THE V					
6	(підпис) Данько прізвище)	Л.О. Клименко (ініціали, прізвище)					
		0 /2 -:					
	«20» 20 <u>22</u> p	pik grand grand (gara)					
		80 19 99					
	100	AKT					
	ВПРОВАДЖЕННЯ Н	АУКОВО-ДОСЛІДНОЇ РОБОТИ					
	Замовник:	ФОП «Клименко Л.О.»					
		(найменування організації)					
		директор Людмила Олександрівна Клименко					
		(посада, ПІБ керівника організації)					
	Цим актом підтверджується, впр	ровадження результатів роботи виконаних у межах					
	наукової держбюджетної тематики:	Інноваційні технологічні рішення у виробництві харчової продукції, 0119U101237					
	100	(найменування теми, номер державної реєстрації)					
	Держбюджетна тематика виконується на кафедрі:	Технологій та безпечності харчових продуктів					
	Дата виконання держбюджетної тематики:	2019–2024 р. ФОП «Клименко Л.О.»					
	Результати роботи впроваджені на підприємстві:						
		(найменування підприємства, де здійснювалось впровадження)					
1	Вид впроваджених результатів	технологія ковбасок із використанням ізоляту білка із шроту насіння гарбуза					
		(експлуатація виробу, роботи, технології; виробництво виробу, роботи, технології, функціонування систем)					
2	Характеристика масштабу впровадження	дослідно-промислова партія					
		(унікальне, одиночне, партія, масове, серійне)					
3	Форма впровадження	виробничий випуск					
	Новизна результатів науково-	нові досліджень результати, використана нова сировина,					
4	дослідних робіт	розроблено нову технологію, продукція випускається					
		вперше (піонерські, принципово нові, якісно нові, модифікація, модернізація старих					
5	Впроваджені на основі нормативно- технічної документації	розробок) ТУ У 10.8-04718013-006:2022					
		(вказати номер і назву нормативно-технічної документації)					
6	Впроваджені в промислове виробництво	ФОП «Клименко Л.О.»					

(назва підприємства)

7 Рентабельність продукції (Додаток 1)

ефект (Додаток 2)

28 %

Соціальний і науково-технічний

(характеристика прибутковості господарської діяльності підприємства від реалізації дослідно-промислової партії)

розроблені ковбаски рекомендовано використовувати як самостійний харчовий продукт, так і у складі кулінарної продукції в закладах ресторанного господарства та підприємствах харчової промисловості (холодні та гарячі закуски, салати, виробів із борошна), які значно розширять асортимент готової продукції збагаченої повноцінним білком і можуть бути реалізовані в оптовій та роздрібній торгівлі.

(використання в харчовій промисловості та реалізація населенню)

9 Удосконалено виробництво та доведено економічний ефект від випуску та реалізації досліднопромислової партія розміром 30 кг. До акту додається розрахунок економічного ефекту (Додаток 1)

10 До акту додається довідка про соціальний ефект від впровадження результатів науково-дослідної роботи (Додаток 2)

Співвласниками акту впровадження науково-дослідної роботи є Сумський національний аграрний 11 університет та Університет Хечжоу, Китай (Food and Bioengineering department of Hezhou University, China)

ВІД ЗАКЛАДУ ОСВІТИ

Керівник роботи

А.О. Геліх

(ініціали, прізвище)

Аспірант

and Dan

Гао Дан

ис) (ініціали, прізвище)

Завідувач кафедрою

М.М. Самілик

(ініціали, прізвище)

ВІД ПІДПРИЄМСТВА

Директор, Р И С

Л.О. Клименко

(ініціали, прізвище)

Л.О. Клименко

2022 рік

### Довідка

щодо економічного ефекту від випуску та реалізації дослідно-промислової партії за темою:

Інноваційні технологічні рішення у виробництві харчової продукції

Геліх А.О., к. т. н., доцент кафедри технологій та

Керівник роботи: безпечності харчових продуктів Сумського

національного аграрного університету

Аспірант: Гао Дан, ст. викладач кафедри харчування та

біоінженерії Університету Хечжоу, Китай

Номер державної реєстрації: 0119U101237

Економічний ефект від виконання науково-дослідної роботи «Інноваційні технологічні рішення у виробництві харчової продукції» полягає у розробці технології ізоляту білка із шроту насіння гарбуза для використання у складі харчової та кулінарної продукції, а саме, технології ковбасок, що розширить асортимент готової продукції із підвищеною біологічною цінністю та зниженою калорійністю.

Ковбаски із використанням ізоляту білка із шроту насіння гарбуза виробили у кількості 30 кг, як дослідно-промислову партію.

Економічний ефект від випуску та реалізації дослідно-промислової партії визначали за показником рентабельності продукції, що склав 28 %. Рентабельність продукції визначали як відношення чистого прибутку від реалізації до собівартості продукції враховуючи об'єм дослідно-промислової партії.

Під час виробництва та реалізації населенню була апробована та оптимізована нова рецептура ковбасок.

Ковбаски із використанням ізоляту білка із шроту насіння гарбуза є високоякісними, безпечними, з високими органолептичними показниками та рекомендуються для використання у дитячому та дієтичному харчуванні.

щодо соціального ефекту від впровадження результатів науково-дослідної роботи за темою:

- 33				_	
	Інновашіині	технологічні	ришення	<b>У ВИВООНИЦТВ</b>	і харчової продукції
			1	) Pooling	mb reper wheely well

	Геліх А.О., к. т. н., доцент кафедри технологій та								
Керівник роботи:	безпечності харчових продуктів Сумського								
	національного аграрного університету								
Аспірант:	Гао Дан, ст. викладач кафедри харчування та								
Астрант.	біоінженерії Університету Хечжоу, Китай								
Номер державної реєстрації:	0119U101237								

Соціальний ефект від виконання науково-дослідної роботи «Інноваційні технологічні рішення у виробництві харчової продукції» полягає у розробці технології ізоляту білка із шроту насіння гарбуза для використання у складі харчової та кулінарної продукції, а саме, технології ковбасок, що розширить асортимент готової продукції із підвищеною біологічною цінністю та зниженою калорійністю.

Ковбаски із використанням ізоляту білка із шроту насіння гарбуза  $\epsilon$  економічно доступними для широких верств населення з різним рівнем доходу, можуть бути використані у дієтичному та дитячому харчуванні.

ЗАТВЕРДЖУЮ

«Клименко Л.О.»

Л.О. Клименко (ініціали, прізвище)

Addition N Certificate of implementation "Technology of biscuits using protein isolate from pumpkin seed meal"

# МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ СУМСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ АГРАРНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

У3	годжено	ЗАТВЕРДЖУЮ				
Пр	оректор з наукової	H14654734 6				
та	міжнародної діяльнасті,	The state of the s				
до	ктор економічних дажк, професор	роткакцимента Л.О.»				
/	HOAL AZERKO	Л.О. Клименко				
	(мідпис) (мідпис)	(ініціали, прізвище)				
	«20» 2202 7022 p	pik 2022 pik				
	(4ara) + 13 49	(дата)				
	THE THE PARTY OF T					
		AKT				
	ВПРОВАДЖЕННЯ Н	АУКОВО-ДОСЛІДНОЇ РОБОТИ				
	Замовник:	ФОП «Клименко Л.О.»				
		(найменування організації)				
		директор Людмила Олександрівна Клименко				
		(посада, ППБ керівника організації)				
	Цим актом підтверджується, впр	ровадження результатів роботи виконаних у межах				
	наукової держбюджетної тематики:	Інноваційні технологічні рішення у виробництві харчової				
		продукції, 0119U101237  (найменування теми, номер державної реєстрації)				
	Держбюджетна тематика	Manufacture and a control of control of the control				
	виконується на кафедрі:	Технологій та безпечності харчових продуктів				
	Дата виконання держбюджетної	2019–2024 p.				
	тематики:	2017 2027 p.				
	Результати роботи впроваджені на підприємстві:	ФОП «Клименко Л.О.»				
	паприсметьи	(найменування підприємства, де здійснювалось впровадження)				
1	P	технологія печива бісквітного із використанням ізоляту				
1	Вид впроваджених результатів	білка із шроту насіння гарбуза				
		(експлуатація виробу, роботи, технології; виробництво виробу, роботи, технології, функціонування систем)				
2	Характеристика масштабу	дослідно-промислова партія				
	впровадження	(унікальне, одиночне, партія, масове, серійне)				
3	Форма рипоралмания	виробничий випуск				
3	Форма впровадження	нові досліджень результати, використана нова сировина,				
4	Новизна результатів науково-	розроблено нову технологію, продукція випускається				
	дослідних робіт	вперше				
		(піонерські, принципово нові, якісно нові, модифікація, модернізація старих розробок)				
5	Впроваджені на основі нормативнотехнічної документації	ТУ У 10.8-04718013-006:2022				
		(вказати номер і назву нормативно-технічної документації)				
6	Впроваджені в промислове виробництво	ФОП «Клименко Л.О.»				

(назва підприємства)

7 Рентабельність продукції (Додаток 1)

ефект (Додаток 2)

Соціальний і науково-технічний

45 %

(характеристика прибутковості господарської діяльності підприємства від реалізації дослідно-промислової партії)

розроблене печиво бісквітне рекомендовано використовувати як самостійний харчовий продукт, так і у складі кулінарної продукції в закладах ресторанного господарства та підприємствах харчової промисловості (холодні та гарячі закуски, кондитерські вироби), які значно розширять асортимент готової продукції збагаченої повноцінним білком і можуть бути реалізовані в оптовій та роздрібній торгівлі.

(використання в харчовій промисловості та реалізація населенню)

9 Удосконалено виробництво та доведено економічний ефект від випуску та реалізації досліднопромислової партія розміром 30 кг. До акту додається розрахунок економічного ефекту (Додаток 1)

До акту додається довідка про соціальний ефект від впровадження результатів науково-дослідної роботи (Додаток 2)

Співвласниками акту впровадження науково-дослідної роботи є Сумський національний аграрний 11 університет та Університет Хечжоу, Китай (Food and Bioengineering department of Hezhou

ВІД ЗАКЛАДУ ОСВІТИ

University, China)

Керівник роботи

t 1

А.О. Геліх (ініціали, прізвище)

Аспірант

от Дот Гао Дан

(підпис) (ініціали, прізвище)

Завідувач кафедрою

М.М. Самілик

(ініціали, прізвище)

ВІД ПІДПРИЄМСТВА

Л.О. Клименко (ініціали, прізвище)

щодо економічного ефекту від випуску та реалізації дослідно-промислової партії за темою:

Y					***
Інновашині	технолог1чн1	ишення у	вироонинтві	харчовог	пролукии
IIIIIODGILIIIII	TOTALIONIOI I IIII	Piliterini	Dispositification	map robot	1100471

	Геліх А.О., к. т. н., доцент кафедри технологій та								
Керівник роботи:	безпечності харчових продуктів Сумського								
	національного аграрного університету								
A	Гао Дан, ст. викладач кафедри харчування та								
Аспірант:	біоінженерії Університету Хечжоу, Китай								
Номер державної реєстрації:	0119U101237								
The contract of the contract o									

Економічний ефект від виконання науково-дослідної роботи «Інноваційні технологічні рішення у виробництві харчової продукції» полягає у розробці технології ізоляту білка із шроту насіння гарбуза для використання у складі харчової та кулінарної продукції, а саме, технології печива бісквітного, що розширить асортимент готової продукції із підвищеною біологічною цінністю та зниженою калорійністю.

Печиво бісквітне із використанням ізоляту білка із шроту насіння гарбуза виробили у кількості 30 кг, як дослідно-промислову партію.

Економічний ефект від випуску та реалізації дослідно-промислової партії визначали за показником рентабельності продукції, що склав 45 %. Рентабельність продукції визначали як відношення чистого прибутку від реалізації до собівартості продукції враховуючи об'єм дослідно-промислової партії.

Під час виробництва та реалізації населенню була апробована та оптимізована нова рецептура печива бісквітного.

Печиво бісквітне із використанням ізоляту білка із шроту насіння гарбуза  $\epsilon$  високоякісним, безпечним, з високими органолептичними показниками та рекомендується для використання у дієтичному, дитячому та вегетаріанському харчуванні.

ко Л.О.»

probmes

Л.О. Клименко (ініціали, прізвище)

щодо соціального ефекту від впровадження результатів науково-дослідної роботи за темою:

Y		(*)			***
Інноваціині	технологічні	рішення	у виробництві	харчовоі	продукци

							и технологій	та		
Керівник роботи:	безпе	чності		харч	ових	продукт	ів Сумсы	ого		
	націо	національного аграрного університету								
Аспірант:							харчування	та		
Астрант.	біоінженерії Університету Хечжоу, Китай						гай			
Номер державної реєстрації:	0119L	J10123	7							

Соціальний ефект від виконання науково-дослідної роботи «Інноваційні технологічні рішення у виробництві харчової продукції» полягає у розробці технології ізоляту білка із шроту насіння гарбуза для використання у складі харчової та кулінарної продукції, а саме, технології печива бісквітного, що розширить асортимент готової продукції із підвищеною біологічною цінністю та зниженою калорійністю.

Печиво бісквітне із використанням ізоляту білка із шроту насіння гарбуза  $\varepsilon$  економічно доступним для широких верств населення з різним рівнем доходу, може бути використане у дієтичному, дитячому та вегетаріанському харчуванні.

именко Л.О.»

Л.О. Клименко (ініціали, прізвище)

2022 рік

mobrille

# **Addition O**

Certificate of implementation "Technology of pork sausages using concentrated taro products"

# МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ СУМСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ АГРАРНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

<b>A3I</b>	ГОДЖЕНО	ЗАТВЕРДЖУЮ									
Про	рректор з наукової	w ·									
та м	ліжнародної діяльності;	Директор									
	тор економічних наук, професор	ФОП «Клименко Л.О.»									
/	Ю. Датько	Л.О. Клименко									
1	(нідпис)	(підпис) (ініціали, прізвище)									
	«08» (2023p	[ C									
	(hera)	21850 (дата)									
	Winning act.										
		AKT									
	ВПРОВАДЖЕННЯ Н	ІАУКОВО-ДОСЛІДНОЇ РОБОТИ									
	Замовник:	ФОП «Клименко Л.О.»  (найменування організації)									
		And the state of t									
		директор Людмила Олександрівна Клименко (посада, ПІБ керівника організації)									
	П										
	цим актом підтверджується, впр	ровадження результатів роботи виконаних у межах Розробка технічної документації на напівфабрикат з									
	наукової держбюджетної тематики:	рослинної сировини для м'ясних фаршевих виробів									
		подвійного призначення									
		(найменування теми)									
	Номер державної реєстрації:	0 1 2 2 U 2 0 2 0 2 4									
	Держбюджетна тематика	Технологій та безпечності харчових продуктів									
	виконується на кафедрі: Дата виконання держбюджетної	темпологи на остичності карчових продуктів									
	тематики:	2022–2023 p.									
	Результати роботи впроваджені на	ФОП «Клименко Л.О.»									
	підприємстві:										
		(найменування підприємства, де здійснювалось впровадження)									
1	Вид впроваджених результатів	технологія ковбасок зі свинини із використанням									
		продуктів із таро концентрованих (експлуатація виробу, роботи, технології; виробництво виробу, роботи,									
	Vanavaranyaruwa waawaasa	технології, функціонування систем)									
	Характеристика масштабу впровадження	дослідно-промислова партія									
		(унікальне, одиночне, партія, масове, серійне)									
3	Форма впровадження	виробничий випуск									
73.40	Новизна результатів науково-	використана нова сировина, розроблено нову технологію,									
	дослідних робіт	нові досліджені результати, продукція випускається									
		вперше (піонерські, принципово нові, якісно нові, модифікація, модернізація старих									
	Daniel and a supposed and a second	розробок)									
	Впроваджені на основі нормативно- технічної документації	ТУ У 10.3-04718013-008:2022									
	телитиот документаци	(вказати номер і назву нормативно-технічної документації)									

6	Впроваджені в промислове виробництво	ФОП «Клименко Л.О.»	
		(назва підприєм	ства)
7	Рентабельність продукції (Додаток 1)	40 %	
8	Соціальний і науково-технічний ефект (Додаток 2)	використовувати як самостійний у складі кулінарної продукції в господарства та підприємствах (холодні та гарячі закуски, салати значно розширять асортиме збагаченої харчовими волокнами можуть бути реалізовані в оптові	ислової партії) винини рекомендовано карчовий продукт, так в закладах ресторанного харчової промисловост в, виробів із борошна), як нт готової продукції и та рослинним білком ій та роздрібній торгівлі.
9	Удосконалено виробництво та доведен промислової партія розміром 30 кг. До а	акту додається розрахунок економі	у та реалізації дослідно- чного ефекту (Додаток 1)
10	До акту додається довідка про соціаль роботи (Додаток 2)		• SEA OF SEA
11	Співвласниками акту впровадження на університет та Університет Хечжоу, І University, Hezhou, China)	уково-дослідної роботи є Сумськи Китай (School of Food and Biolog	й національний аграрний gical Engineering, Hezhou
BI	Į ЗАКЛАДУ ОСВІТИ	ВІД ПІДПРИЄМСТВА	
Ке	рівник роботи	Директор ВОП Жарменко Л.О.»	
	the A.O. Family		ПО И
_	А.О. Геліх (ініціали, прізвище)	Людинымпис)	Л.О. Клименко (ініціали, прізвище)
A 01	пірант	Олександрівна в	(initiality iipissinge)
Λ.		Remandianiform	
_Gi	ого Дот Гао Дан	To some	
Acı	(підпис) (ініціали, прізвище) пірант	Ha M.	
cha	ила Сай Сай Шань Фейфей		
Sie	(підпус) (ініціали, прізвище)		
Зав	ідувач кафедрою		

М.М. Самілик (ініціали, прізвище)

щодо економічного ефекту від випуску та реалізації дослідно-промислової партії за темою:

Розробка технічної документації на напівфабрикат з рослинної сировини для м'ясних фаршевих виробів подвійного призначення

	Геліз	x A.C	)., к.	т.	н.,	доце	нт каф	едрі	и техн	ологій	і та
Керівник роботи:	безп	ечнос	ri	xa	рчон	вих	прод	укті	в (	Сумсы	кого
	націо	оналы	ного	агра	рно	го уні	версит	ету			
Agringram	Гао	Дан,	ст	. В	икл	адач	кафед	ри	харчу	вання	та
Аспірант:	біоінженерії Університету Хечжоу, Китай										
Номер державної реєстрації:	0	1	2	2	I	J 2	0	2	0	2	4

Економічний ефект від виконання науково-дослідної роботи «Розробка технічної документації на напівфабрикат з рослинної сировини для м'ясних фаршевих виробів подвійного призначення» полягає у розробці технології продуктів із таро концентрованих для використання у складі харчової та кулінарної продукції, а саме, технології ковбасок зі свинини, що розширить асортимент готової продукції із зниженою калорійністю та підвищеною біологічною цінністю.

Ковбаски зі свинини із використанням продуктів із таро концентрованих виробили у кількості 30 кг, як дослідно-промислову партію.

Економічний ефект від випуску та реалізації дослідно-промислової партії визначали за показником рентабельності продукції, що склав 40 %. Рентабельність продукції визначали як відношення чистого прибутку від реалізації до собівартості продукції враховуючи об'єм дослідно-промислової партії.

Під час виробництва та реалізації населенню була апробована та оптимізована нова рецептура ковбасок зі свинини.

Ковбаски зі свинини із використанням продуктів із таро концентрованих  $\varepsilon$  високоякісними, безпечними, з високими органолептичними показниками та рекомендуються для використання у харчуванні.

ЗАТВЕРДЖУЮ

Директор

ФОП «Клименко Л.О.»

Hen

«06» «AB

Л.О. Клименко

(ініціали, прізвище)

щодо соціального ефекту від впровадження результатів науково-дослідної роботи за темою:

Розробка технічної документації на напівфабрикат з рослинної сировини для м'ясних фаршевих виробів подвійного призначення

	Геліх	A.O.,	к.	т.	н.,	доцент	кафе	дри	техн	ологій	та
Керівник роботи:	безпе	чності		xa	рчов	вих	проду	ктів	(	Сумськ	ого
	націо	нально	го а	гра	рног	го уніве	рситет	У			
Agringym	Гао	Дан,	ст.	В	икла	адач н	афедр	И	харчу	вання	та
Аспірант:	біоінженерії Університету Хечжоу, Китай										
Номер державної реєстрації:	0	1 2	2	2	ι	J 2	0	2	0	2	4

Соціальний ефект від виконання науково-дослідної роботи «Розробка технічної документації на напівфабрикат з рослинної сировини для м'ясних фаршевих виробів подвійного призначення» полягає у розробці технології продуктів із таро концентрованих для використання у складі харчової та кулінарної продукції, а саме, технології ковбасок зі свинини, що розширить асортимент готової продукції із зниженою калорійністю та підвищеною біологічною цінністю.

Ковбаски зі свинини із використанням продуктів із таро концентрованих є економічно доступними для широких верств населення з різним рівнем доходу, можуть бути використані у харчуванні.

ЗАТВЕРДЖУЮ

Директор

ФОП «Клименко Л.О.»

Л.О. Клименко

(ініціали, прізвище)

*02* 2023 рік

# **Addition P**

Certificate of implementation "Technology of meat pate using protein isolate from pumpkin seed meal"

# МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ СУМСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ АГРАРНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

У3	ГОДЖЕНО	ЗАТВЕРДЖУЮ							
Пр	оректор з наукової								
та	міжнародної діяльності.	Директор 6							
	ктор економічних нами професор	ФОП «Климению Л.О.»							
ДО	233	The same of the sa							
_	(рідпис) (рідпис)	Л.О. Клименко							
	To DE THE REST OF STREET	(підпис) (ініціали, прізвище)							
	(20) 2012 r	A a t							
	(Gara) * 1311	(дата)							
		A TOTAL							
	DIDODA HWEILII G	AKT							
	впровадження н	АУКОВО-ДОСЛІДНОЇ РОБОТИ							
	Замовник:	ФОП «Клименко Л.О.»							
		(найменування організації)							
		директор Людмила Олександрівна Клименко							
		(посада, ПІБ керівника організації)							
	Цим актом підтверджується, впр	ровадження результатів роботи виконаних у межах							
	наукової держбюджетної тематики:	Інноваційні технологічні рішення у виробництві харчової							
		продукції, 0119U101237 (найменування теми, номер державної реєстрації)							
	Держбюджетна тематика	(mainterly salition terms, notice) geometric pecer page)							
	виконується на кафедрі:	Технологій та безпечності харчових продуктів							
	Дата виконання держбюджетної	2010 2024 n							
	тематики:	2019–2024 p.							
	Результати роботи впроваджені на підприємстві:	ФОП «Клименко Л.О.»							
	підприємстві.	(найменування підприємства, де здійснювалось впровадження)							
2		технологія м'ясного паштету із використанням ізоляту							
1	Вид впроваджених результатів	білка із шроту насіння гарбуза							
		(експлуатація виробу, роботи, технології; виробництво виробу, роботи, технології, функціонування систем)							
2	Характеристика масштабу								
2	впровадження	дослідно-промислова партія							
		(унікальне, одиночне, партія, масове, серійне)							
3	Форма впровадження	виробничий випуск							
4	Новизна результатів науково-	нові досліджень результати, використана нова сировина, розроблено нову технологію, продукція випускається							
4	дослідних робіт	вперше							
		(піонерські, принципово нові, якісно нові, модифікація, модернізація старих							
	Впроваджені на основі нормативно-	розробок)							
5	технічної документації	ТУ У 10.8-04718013-006:2022							
		(вказати номер і назву нормативно-технічної документації)							
6	Впроваджені в промислове виробництво	ФОП «Клименко Л.О.»							

(назва підприємства)

7 Рентабельність продукції (Додаток 1)

ефект (Додаток 2)

Соціальний і науково-технічний

37 %

(характеристика прибутковості господарської діяльності підприємства від реалізації дослідно-промислової партії)

розроблений м'ясний паштет рекомендовано використовувати як самостійний харчовий продукт, так і у складі кулінарної продукції в закладах ресторанного господарства та підприємствах харчової промисловості (холодні та гарячі закуски, салати, виробів із борошна), які значно розширять асортимент готової продукції збагаченої повноцінним білком і можуть бути реалізовані в оптовій та роздрібній торгівлі.

(використання в харчовій промисловості та реалізація населенню)

9 Удосконалено виробництво та доведено економічний ефект від випуску та реалізації досліднопромислової партія розміром 30 кг. До акту додається розрахунок економічного ефекту (Додаток 1)

10 До акту додається довідка про соціальний ефект від впровадження результатів науково-дослідної роботи (Додаток 2)

Співвласниками акту впровадження науково-дослідної роботи є Сумський національний аграрний 11 університет та Університет Хечжоу, Китай (Food and Bioengineering department of Hezhou University, China)

ВІД ЗАКЛАДУ ОСВІТИ

Керівник роботи

(ридпис)

А.О. Геліх

(ініціали, прізвище)

Аспірант

Гао Дан

(ініціали, прізвище)

Завідувач кафедрою

М.М. Самілик

(ініціали, прізвище)

ВІД ПІДПРИЄМСТВА

Л.О. Клименко

(ініціали, прізвище)

щодо економічного ефекту від випуску та реалізації дослідно-промислової партії за темою:

т		· ·		
Інновашині	технологични	рипення	V RUDOOHUIITRI	харчової продукції
THE PROPERTY.	TOTAL OPPOSIT	DILLIGHTIM	Dipooning	map robot hpodyman

9	Геліх	A.O.,	к.	т.	н.,	доцент	кафедр	и технологій	та
Керівник роботи:	безпе	чності		xaj	рчов	вих	продукт	ів Сумськ	ого
	націо	нально	го а	гра	рноі	го уніве	ерситету		
A	Гао	Дан,	CT.	В	икла	адач і	сафедри	харчування	та
Аспірант:	біоінженерії Університету Хечжоу, Китай								
Номер державної реєстрації:	0119U101237								

Економічний ефект від виконання науково-дослідної роботи «Інноваційні технологічні рішення у виробництві харчової продукції» полягає у розробці технології ізоляту білка із шроту насіння гарбуза для використання у складі харчової та кулінарної продукції, а саме, технології м'ясного паштету, що розширить асортимент готової продукції із підвищеною біологічною цінністю та зниженою калорійністю.

М'ясний паштет із використанням ізоляту білка із шроту насіння гарбуза виробили у кількості 30 кг, як дослідно-промислову партію.

Економічний ефект від випуску та реалізації дослідно-промислової партії визначали за показником рентабельності продукції, що склав 37 %. Рентабельність продукції визначали як відношення чистого прибутку від реалізації до собівартості продукції враховуючи об'єм дослідно-промислової партії.

Під час виробництва та реалізації населенню була апробована та оптимізована нова рецептура м'ясного паштету.

М'ясний паштет із використанням ізоляту білка із шроту насіння гарбуза  $\epsilon$  високоякісним, безпечним, з високими органолептичними показниками та рекомендується для використання у дитячому та дієтичному харчуванні.

**₩**Л.О.»

Л.О. Клименко

щодо соціального ефекту від впровадження результатів науково-дослідної роботи за темою:

Інноваційні технологічні рішення у виробництві харчової продукції

Геліх А.О., к. т. н., доцент кафедри технологій та

Керівник роботи: безпечності харчових продуктів Сумського національного аграрного університету

Гао Дан, ст. викладач кафедри харчування

Аспірант: біоінженерії Університету Хечжоу, Китай

Номер державної реєстрації: 0119U101237

Соціальний ефект від виконання науково-дослідної роботи «Інноваційні технологічні рішення у виробництві харчової продукції» полягає у розробці технології ізоляту білка із шроту насіння гарбуза для використання у складі харчової та кулінарної продукції, а саме, технології м'ясного паштету, що розширить асортимент готової продукції із підвищеною біологічною цінністю та зниженою калорійністю.

М'ясний паштет із використанням ізоляту білка із шроту насіння гарбуза  $\epsilon$  економічно доступним для широких верств населення з різним рівнем доходу, може бути використаний у дієтичному та дитячому харчуванні.

ЗАТВЕРДЖУЮ

Л.О. Клименко

(ініціали, прізвище)

arobnies

# Addition Q Certificate of implementation "Technology of duck meat sausages using concentrated taro products"

# МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ СУМСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ АГРАРНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

У	ВГОДЖЕНО		3.	ATBI	ЕРДЖ	КУЮ	)					
П	оректор з наукової											
	міжнародної діяльності.			ирект								
	ктор економізних паук професор		Φ	• ПО	Кли	менк	о Л.(	(C				
			,	DOY	1	X	_	TT	0.10			
1	(підпис) Нішат дві вище)		1/2		(JE 1969) (B	to !				пимет, прізвиг		
			11-1	Page 1	DEFENDA	120	1	(I	ніціали		500.50	•sec
	« <u>D8</u> » 20 <u>23</u> p	1K		Oacet	/O »	# ARES	0	(дата)		20	23pi	IK
	Mana Kon Ta		1/2	Тданти	6128 56116	3/4/	,	дага				
	The same of the sa	Δ	KT	to.	Hoash	3]]						
	ВПРОВАДЖЕННЯ Н			0-110	e m	лнс	ji po	250	ти			
	Замовник:	2 2 2 2 4	OD	ОДС		)П «К						
					(н	айменуі	вання о	рганіза	ції)			
			диј	ректор	Люд	мила	Олек	сандр	івна І	Слиме	нко	
		0			(посад	а, ПБ	серівни	ка орга	нізації)			
	Цим актом підтверджується, впр	овада	женн	я резу	льта	тів ро	боти	вико	нани	хум	ежах	
										апівфа		ат з
	наукової держбюджетної тематики:	рослинної сировини для м'ясних фаршевих виробів подвійного призначення										
				го при	изнач							
	Mail		1 -			1	1	я теми)	1			
	Номер державної реєстрації:	0	1	2	2	U	2	0	2	0	2	4
	Держбюджетна тематика виконується на кафедрі:	Технологій та безпечності харчових продуктів										
	Дата виконання держбюджетної											
	тематики:	2022–2023 p.										
	Результати роботи впроваджені на	ΦΩΙ	T "K	пимен	ко П	0 "						
	підприємстві:	401						здійснювалось впровадження)				
				2 (17)	102					(5)		
1	Вид впроваджених результатів								И 13	викор	истан	MRHI
		продуктів із таро концентрованих (експлуатація виробу, роботи, технології; виробництво виробу, роботи,							ти,			
	V	1982000				огії, фу					****	-1000ei
2	Характеристика масштабу впровадження	досл	іідно	-пром	ислов	а парт	гія					
	впровадження			(унік	альне,	одиночі	не, парт	гія, мас	ове, сер	ійне)		
3	Форма впровадження	виро	бнич	ний ви	пуск							
						ровин	a, pos	вробл	ено но	ову тех	хнолс	гію,
4	Новизна результатів науково- дослідних робіт									вип		
	дослідних рооп	впер										
		(п	юнерс	ькі, при	нципов		ікісно і іх розр		дифіка	ція, мод	ернізац	RIJ
5	Впроваджені на основі нормативно- технічної документації	ТУ !	У 10.	3-0471	18013	-008:2	022					
	теличног документаци			(вказати номер і назву нормативно-технічної документації)								

6	Впроваджені в промислове виробництво	ФОП «Клименко Л.О.»
	Бирооництво	(назва підприємства)
7	Рентабельність продукції (Додаток 1)	17 % (характеристика прибутковості господарської діяльності підприємства від
8	Соціальний і науково-технічний ефект (Додаток 2)	(холодні та гарячі закуски, салати, виробів із борошна), які значно розширять асортимент готової продукції збагаченої харчовими волокнами та рослинним білком і можуть бути реалізовані в оптовій та роздрібній торгівлі.  (використання в харчовій промисловості та реалізація населенню)
9	промислової партія розміром 30 кг	оведено економічний ефект від випуску та реалізації дослідно- . До акту додається розрахунок економічного ефекту (Додаток 1)
10	роботи (Додаток 2)	ціальний ефект від впровадження результатів науково-дослідної ня науково-дослідної роботи є Сумський національний аграрний
11	університет та Університет Хечж University, Hezhou, China)	коу, Китай (School of Food and Biological Engineering, Hezhou
ВЦ	Į ЗАКЛАДУ ОСВІТИ	ВІД ПІДПРИЄМСТВА
Кеј	рівник роботи	директор ДОП «Юминко Л.О.»
<	А.О. Гелі	х Людины Л.О. Клименко
Aci	пірант	* Ingerrand (sant) unit
_ ( <i>)</i>	(підпис) (ініціали, прізв	THE WAY
ACI	пірант	
sho	шань Фейс (ініціали, прізв	
Зав	відувач кафедрою	

М.М. Самілик (ініціали, прізвище)

щодо економічного ефекту від випуску та реалізації дослідно-промислової партії за темою:

Розробка технічної документації на напівфабрикат з рослинної сировини для м'ясних фаршевих виробів подвійного призначення

	Геліх	A.O.,	к.	т.	н.,	доцент	г кафе,	дри	техн	ологій	та
Керівник роботи:	безпечності				харчових пр			продуктів Сумськ			сого
	національного аграрного університету										
Аспірант:	Гао	Дан,	CT.	В	икла	адач і	кафедрі	A	харчу	вання	та
	біоінженерії Університету Хечжоу, Китай										
Номер державної реєстрації:	0	1	2	2	U	2	0	2	0	2	4

Економічний ефект від виконання науково-дослідної роботи «Розробка технічної документації на напівфабрикат з рослинної сировини для м'ясних фаршевих виробів подвійного призначення» полягає у розробці технології продуктів із таро концентрованих для використання у складі харчової та кулінарної продукції, а саме, технології ковбасок з м'яса качки, що розширить асортимент готової продукції із зниженою калорійністю та підвищеною біологічною цінністю.

Ковбаски з м'яса качки із використанням продуктів із таро концентрованих виробили у кількості 30 кг, як дослідно-промислову партію.

Економічний ефект від випуску та реалізації дослідно-промислової партії визначали за показником рентабельності продукції, що склав 17 %. Рентабельність продукції визначали як відношення чистого прибутку від реалізації до собівартості продукції враховуючи об'єм дослідно-промислової партії.

Під час виробництва та реалізації населенню була апробована та оптимізована нова рецептура ковбасок з м'яса качки.

Ковбаски з м'яса качки із використанням продуктів із таро концентрованих є безпечним, з високими органолептичними високоякісним, показниками рекомендується для використання у дитячому та дієтичному харчуванні.

ЗАТВЕРДЖУЮ

1406 H

Директор

ФОП «Клименко Л.О.»

Л.О. Клименко

2023рік

(ініціали, прізвище)

щодо соціального ефекту від впровадження результатів науково-дослідної роботи за темою:

Розробка технічної документації на напівфабрикат з рослинної сировини для м'ясних фаршевих виробів подвійного призначення

Керівник роботи:	безп	х А.О. ечност ональн	i	xa	рчон	вих	прод	укті		ологій Сумсы	
Аспірант:	Гао Дан, ст. викладач кафедри біоінженерії Університету Хечжоу, Кі										
Номер державної реєстрації:	0	1	2	2	J	J 2	0	2	0	2	4

Соціальний ефект від виконання науково-дослідної роботи «Розробка технічної документації на напівфабрикат з рослинної сировини для м'ясних фаршевих виробів подвійного призначення» полягає у розробці технології продуктів із таро концентрованих для використання у складі харчової та кулінарної продукції, а саме, технології ковбасок з м'яса качки, що розширить асортимент готової продукції із зниженою калорійністю та підвищеною біологічною цінністю.

Ковбаски з м'яса качки із використанням продуктів із таро концентрованих  $\varepsilon$  економічно доступним для широких верств населення з різним рівнем доходу, може бути використаний у дієтичному та дитячому харчуванні.

ЗАТВЕРДЖУЮ

Директор

ФОП «Клименко Л.О.»

Л.О. Клименко

(ініціали, прізвище)



# Application proof

Product name	Pumpkin Seed Protein Isolate Sausage					
Standard number	Q/YTBG-0002S-2022					
Invention Institution	1 Hezhou University;					
	2 Sumy National Agrarian University					
Product inventor	Dan Gao <sup>1</sup> , Anna O. Helikh <sup>2</sup>					
Application unit	Shenzhen Huataixing Food Co., Ltd.					
Mailing address	Shuitou Industrial Zone, Dapeng Street, Longgang District Shenzhen (No. 43 Seafood Commercial Street)					

Since September 17, 2022, our company has adopted the product formula and processing technology of "Pumpkin Seed Protein Isolate Sausage" provided by Gao Dan. The applied pumpkin seed protein isolate sausage product has pink meat, strong aroma and prominent meat flavor. The meat is elastic, the organization is tight, the taste is good, the nutrition is relatively rich, and it has good economic value, which meets the product needs of our company.

Enterprise (official seal)

Head of enterprise: Find 12 Young biomghom



# Application proof

	1000					
Product name	Pumpkin Seed Protein Isolate Cookies					
Standard number	Q/YTBG-0004S-2022					
Invention Institution	1 Hezhou University;					
	2 Sumy National Agrarian University					
Product inventor	Dan Gao <sup>1</sup> , Anna O. Helikh <sup>2</sup>					
Application Company	Shenzhen Huataixing Food Co., Ltd.					
Mailing address	Shuitou Industrial Zone, Dapeng Street, Longgang Distri Shenzhen (No. 43 Seafood Commercial Street)					

Since September 23, 2022, our company has adopted the product formula and processing technology of "Pumpkin Seed Protein Isolate Biscuits" provided by Dan Gao. The pumpkin seed protein isolate biscuit products are crunchy and delicious, with the unique flavor and taste of pumpkin seeds. They are nutritious, protein-rich, with good nutritional value and economic value, and they are in line with our company's product needs.



Head of enterprise: Anthir Jong Dianghan

Date: 2022. [0.3]