

Исследование содержания флавоноидов в обогащенных хлебобулочных изделиях, полученных с использованием ингредиентов растительного происхождения

Ирина В. Калинина	¹	9747567@mail.ru
Ирина Ю. Потороко	¹	irina_potoroko@mail.ru
Наталья В. Науменко	¹	naumenko_natalya@mail.ru
Артём В. Малинин	¹	artemmalinin3@gmail.com
Арам В. Цатуров	¹	aram-chel@mail.ru
Ринат И. Фаткуллин	¹	5792687@mail.ru

¹ Южно-Уральский государственный университет (НИУ), пр-т Ленина, 76, г. Челябинск, 454080, Россия

Аннотация. В статье рассматривается возможность использования ингредиентов растительного происхождения при производстве обогащенных хлебобулочных изделий с целью повышения содержания в них флавоноидов, веществ способных улучшать регуляцию клеточного метаболизма и участвовать в защите организма человека от окислительного стресса. В рамках решения вопросов повышения количества флавоноидов в составе пищевой матрицы хлеб и хлебобулочные изделия являются наиболее оптимальными, т.к. имеют сложную пищевую матрицу и содержат все макронутриенты в разных соотношениях. При регулярном потреблении хлебобулочных изделий, они могут стать реальным инструментом восполнения недостающих в рационе питания человека микронутриентов или быть источником биологически активных веществ направленного действия. В рамках исследований изучалось два направления: использование технологии обогащения пищевыми ингредиентами, богатыми флавоноидами (дигидрокверцетин и его микронизированная форма) и увеличение содержания флавоноидов за счет собственных ресурсов зерна (цельнозерновая мука из пророщенного зерна пшеницы). Наиболее высокое количество флавоноидов было отмечено в образцах хлеба, как с добавкой ДГК, так и микронизированного ДГК, значения количества флавоноидов увеличилось относительно контроля $0,167 \pm 0,002$ мг EQ/г и $0,195 \pm 0,004$ мг EQ/г соответственно. Причем их содержание практически не отличается по количеству как в корке и подкорковом слое, так и в мякише образцов хлеба. Использование цельнозерновой муки из пророщенного зерна пшеницы также приводит к повышению количества флавоноидов как в корке и подкорковом слое, так и в мякише образцов хлеба. Данное значение повышается согласно проценту вносимой цельнозерновой муки и обусловлено содержанием в ней флавоноидов ($0,14 \pm 0,002$ мг EQ / г).

Ключевые слова: обогащение хлеба и хлебобулочных изделий, флавоноиды, дигидрокверцетин, пророщенное зерно пшеницы

Investigation of the content of flavonoids in fortified bakery products obtained using ingredients of plant origin

Irina V. Kalinina	¹	9747567@mail.ru
Irina Yu. Potoroko	¹	irina_potoroko@mail.ru
Natalia N. Naumenko	¹	naumenko_natalya@mail.ru
Artem V. Malinin	¹	artemmalinin3@gmail.com
Aram V. Tsaturov	¹	aram-chel@mail.ru
Rinat I. Fatkullin	¹	5792687@mail.ru

¹ South Ural State University (NRU), Lenin Av., 76, Chelyabinsk, 454080, Russia

Abstract. The article considers the possibility of using ingredients of plant origin in the production of enriched bakery products in order to increase the content of flavonoids in them, substances capable of improving the regulation of cellular metabolism and participate in protecting the human body from oxidative stress. As part of solving the issues of increasing the amount of flavonoids in the composition of the food matrix, bread and bakery products are the most optimal, because have a complex food matrix and contain all macronutrients in different ratios. With regular consumption of bakery products, they can become a real tool for replenishing micronutrients missing in the human diet or be a source of biologically active substances of directional action. As part of the research, two areas were studied: the use of enrichment technology with food ingredients rich in flavonoids (dihydroquercetin and its micronized form) and an increase in the content of flavonoids at the expense of its own grain resources (whole-wheat flour from germinated wheat grain). The highest amount of flavonoids was observed in bread samples, both with the addition of DHA and micronized DHA, the number of flavonoids increased relative to the control 0.167 ± 0.002 mg EQ / g and 0.195 ± 0.004 mg EQ / g, respectively. Moreover, their content practically does not differ in quantity both in the crust and the subcortical layer, and in the crumb of bread samples. The use of whole-grain flour from sprouted wheat grain also leads to an increase in the amount of flavonoids both in the rind and subcortical layer, and in the crumb of bread samples. This value increases according to the percentage of whole-grain flour applied and is due to the content of flavonoids in it (0.14 ± 0.002 mg EQ / g).

Keywords: enrichment of bread and bakery products, flavonoids, dihydroquercetin, wheat germinated grain

Для цитирования

Калинина И.В., Потороко И.Ю., Науменко Н.В., Малинин А.В., Цатуров А.В., Фаткуллин Р.И. Исследование содержания флавоноидов в обогащенных хлебобулочных изделиях, полученных с использованием ингредиентов растительного происхождения // Вестник ВГУИТ. 2019. Т. 81. № 2. С. 114–118. doi:10.20914/2310-1202-2019-2-114-118

For citation

Kalinina I.V., Potoroko I.Yu., Naumenko N.N., Malinin A.V., Tsaturov A.V., Fatkullin R.I. Investigation of the content of flavonoids in fortified bakery products obtained using ingredients of plant origin. *Vestnik VGUIT* [Proceedings of VSUET]. 2019. vol. 81. no. 2. pp. 114–118. (in Russian). doi:10.20914/2310-1202-2019-2-114-118

Введение

Флавоноиды представляют собой полифенольные соединения, продуцируемые растениями и доставляемые в организм человека посредством пищи. Несмотря на то что эпидемиологический анализ не выявил простую взаимосвязь между потреблением флавоноидов и здоровьем, лабораторными исследованиями и клиническими испытаниями ясно демонстрируется эффективность флавоноидов в профилактике сердечно-сосудистых, канцерогенных, нейродегенеративных, иммунных, а также других заболеваний. В настоящее время хорошо известна способность флавоноидов улучшать регуляцию клеточного метаболизма и участвовать в защите организма человека от окислительного стресса.

Некоторые биофизические аспекты влияния флавоноидов на здоровье человека остаются до сих пор неясными. В отличие от общепризнанных витаминов дефицит флавоноидов в пище не приводит к развитию синдрома выраженного дефицита. Поэтому первоначально присвоенный флавоноидам статус витаминов (витамин Р) позже был сведен к «витаминоподобным веществам» [5].

Привлекательность флавоноидов состоит в их положительном влиянии на здоровье человека и терапевтическом потенциале их синтетических производных, включая мощные противовоспалительные, антиканцерогенные, противовирусные, противопаразитарные и бактерицидные химические вещества.

Следует отметить, что флавоноиды и их химические производные часто менее токсичны и обнаруживают более низкие побочные эффекты, чем производные, полученные из других природных соединений. Тем не менее, подобно любому химическому веществу, флавоноиды могут наносить вред при высоких дозах, хотя побочные эффекты их приема не были широко изучены [4]. Излишнее потребление флавоноидов, которые часто предлагаются аптеками, должно быть предметом беспокойства [5, 6].

Из-за медицинского использования флавоноидов в последнее время наблюдается значительное увеличение исследований их влияния на здоровье человека. В течение последних двух десятилетий количество исследований в этой области увеличилось примерно в 10 раз и теперь достигает более 5000 публикаций в год.

В рамках решения вопросов биодоступности флавоноидов в составе пищевой матрицы хлеб и хлебобулочные изделия являются, на наш взгляд, наиболее приемлемыми. Изделия

данной группы товаров имеют сложную пищевую матрицу, одновременно содержат все макро-нутриенты в разных соотношениях (углеводы 40–50%, белки 6–9%, липиды 1–3%), которые претерпевают многообразные физико-химические и биохимические превращения в процессе технологии производства.

При регулярном потреблении хлебобулочных изделий они могут стать реальным инструментом восполнения недостающих в рационе питания человека микронутриентов или быть источником БАВ направленного действия [7–10].

Именно это определило направление исследований – поиск путей обогащения хлебобулочных изделий флавоноидами растительного происхождения.

Материалы и методы

Базовой (используемой для контрольного образца) рецептурой исследуемых образцов хлебобулочных изделий была выбрана рецептура хлеба пшеничного из муки 1-го сорта, полученного безопасным способом. Пробную лабораторную выпечку проводили согласно ГОСТ 27669–88. Готовые образцы хлеба оценивались через 3 ч после выпечки. Пробная лабораторная выпечка хлеба массой 500 г проводилась при температуре 200 °С.

В рамках исследований изучалось два направления: использование технологии обогащения пищевыми ингредиентами, богатыми флавоноидами, и увеличение содержания флавоноидов за счет собственных ресурсов зерна.

В качестве пищевого ингредиента растительного происхождения, богатого флавоноидами, был выбран дигидрокверцетин (ДГК). В РФ дигидрокверцетин разрешен к применению, рекомендуемые нормы его потребления установлены Федеральным центром гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора. Суточная доза потребления флавоноидов согласно МР 2.3.1.2432–08 составляет 250 мг, для детей 150–250 мг. Согласно МР 2.3.1.1915–04 рекомендуемая суточная доза флавоноидов составляет 85–120 мг, а ДГК 25–100 мг в день. Вместе с тем проблематика использования ДГК в пищевой отрасли и биомедицине обусловлена его низкой растворимостью и биодоступностью. По этой причине в качестве метода повышения растворимости и биодоступности ДГК была использована его микронизация на основе ультразвукового воздействия.

Для ультразвукового воздействия (УЗВ) был использован акустический источник упругих колебаний ультразвуком – прибор «Волна» модель УЗТА–0,4/22–ОМ при частоте

($22 \pm 1,65$) кГц [2, 3]. Предварительно готовился 0,1%-ный раствор ДГК, который подвергался ультразвуковому воздействию при мощности 576 Вт, времени воздействия 18–20 мин в соответствующих режимах в охлаждающей рубашке, контроле температуры – не более 40 °С.

Для проращивания использовали зерно пшеницы сорта Любава, выращенное в степной зоне Челябинской области. Интенсификацию процесса проращивания также проводили с использованием прибора «Волна», зерно обрабатывали на акустическом источнике упругих колебаний при частоте ($22 \pm 1,65$) кГц и мощности 340 Вт, продолжительность воздействия 5 мин. Проращивание осуществлялось при контроле длительности процессов замачивания (6–8 ч) и проращивания (12–14 ч) до величины ростка 1,0–1,5 мм), затем зерно высушивалось до влажности 12–14%, измельчалось на мельнице Brabender Break Mill SM3 и в виде цельносмолотой муки вводилось в качестве зерновой добавки в исследуемые образцы хлеба (средневзвешенный размер частиц – 177 ± 25 мкм).

Образец 1 – хлеб из пшеничной муки, полученный с дополнительным внесением 0,05% к массе муки ДГК;

образец 2 – хлеб из пшеничной муки, полученный с дополнительным внесением микронизированного УЗВ дигидрокверцетина из расчета 0,045% к массе муки;

образец 3 – хлеб из пшеничной муки, полученный с добавлением путем частичной замены цельносмолотой муки из пророщенного зерна пшеницы в соотношении 90:10 соответственно;

образец 4 – хлеб из пшеничной муки, полученный с добавлением путем частичной замены цельносмолотой муки из пророщенного зерна пшеницы в соотношении 80:20 соответственно;

образец 5 – хлеб из пшеничной муки, полученный с добавлением путем частичной замены цельносмолотой муки из пророщенного зерна пшеницы в соотношении 70:30 соответственно.

Общее содержание флавоноидов определяли согласно методике описанной Eberhardt [8]. Для этого 0,075 мл 5%-ного NaNO_2 смешивали с 0,5 мл образца (этанольный экстракт, разбавленный 1 мл воды). Через 6 мин добавляли 0,15 мл 10%-ного раствора AlCl_3 и смесь оставляли стоять в течение еще 5 мин. Затем добавляли 0,5 мл 1 М NaOH и доводили объем до 2,5 мл дистиллированной водой. Абсорбцию измеряли при 510 нм сразу после смешивания. Результаты выражали в мг EQ/г продукта (в пересчете на кверцетин) [7].

Результаты и обсуждение

Исторически сложилось и до сих пор остается незыблемым, что хлеб и хлебобулочные изделия являются одними из основных продуктов питания большинства людей. Хлеб уникален по природе, он выгодно отличается своей «неприедаемостью», хорошей перевариваемостью и усвояемостью от других продуктов питания. Являясь источником энергии и ряда питательных веществ, необходимых для нормальной жизнедеятельности организма, хлеб одновременно имеет огромное психофизиологическое значение. Приоритетное значение хлебобулочных изделий в питании населения обусловлено также ценовой доступностью.

Доля хлебобулочных изделий в рационах питания населения зависит от привычек, социальных факторов и экономических возможностей, но в среднем составляет 20–25% от общей массы потребляемой пищи [4]. Рекомендуемые нормы потребления хлеба взрослым человеком составляют 250 г в сутки, что позволяет в среднем получить более 500 ккал и удовлетворить около 25% энергоемкости суточного рациона.

Контроль общего содержания флавоноидов в изделиях данной группы товаров необходим, на наш взгляд, поскольку методическими рекомендациями МР 2.3.1.2432–08 установлены рекомендуемые уровни потребления веществ данной группы (для взрослых – 250 мг/сут, для детей 7–18 лет – от 150 до 250 мг/сут). Результаты определения флавоноидов в исследуемых образцах представлены на рисунках 1 и 2.

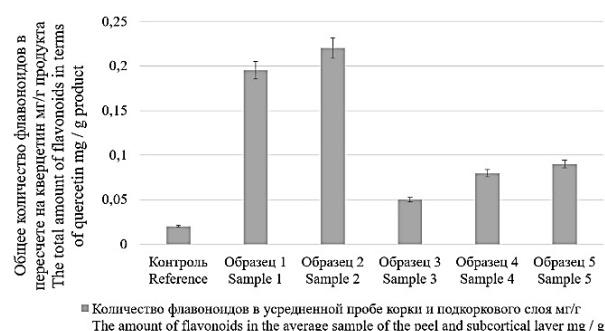


Рисунок 1. Результаты количественного определения флавоноидов в усредненных пробах корки и подкорковом слое хлебобулочных изделий (мг EQ/г)

Figure 1. Results of the quantitative determination of flavonoids in the average samples of the peel and the subcortical layer of bakery products (mg EQ/g)

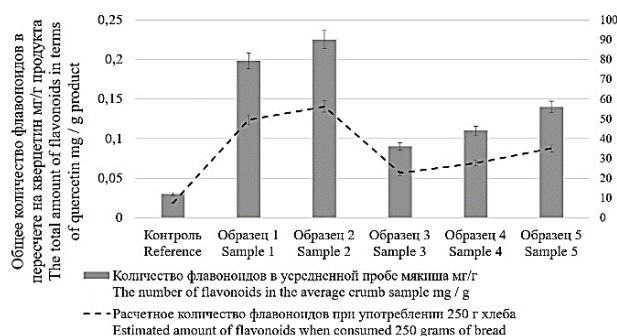


Рисунок 2. Результаты количественного определения флавоноидов в усредненных пробах мякиша хлебобулочных изделий (мг EQ/г) в сопоставлении с расчетным количеством (при употреблении 250 г хлеба)

Figure 2. Results of the quantitative determination of flavonoids in the average crumb samples of bakery products (mg EQ/g) in comparison with the calculated amount (when eating 250 g of bread)

Полученные данные свидетельствуют о том, что наиболее высокое количество флавоноидов было отмечено в образцах хлеба как с добавкой ДГК, так и микронизированного ДГК, значение количества флавоноидов увеличилось относительно контроля $0,167 \pm 0,002$ мг EQ/г и $0,195 \pm 0,004$ мг EQ/г соответственно. Причем их содержание практически не отличается по количеству как в корке и подкорковом слое, так и в мякише образцов хлеба. Возможно, это можно объяснить достаточно высокой температурой плавления самой молекулы ДГК ($222\text{--}226^\circ\text{C}$). Процесс микронизации позволяет повысить растворимость данного компонента, что обеспечивает его более полное встраивание в пищевую матрицу теста и минимизирует потери в результате проведения технологического процесса.

Использование цельнозерновой муки из пророщенного зерна пшеницы также приводит к повышению количества флавоноидов как

в корке и подкорковом слое, так и в мякише образцов хлеба. Данное значение повышается согласно проценту вносимой цельнозерновой муки и обусловлено содержанием в ней флавоноидов ($0,14 \pm 0,002$ мг EQ/г). Что говорит о возможности использования данного сырьевого компонента для обогащения хлеба и хлебобулочных изделий.

Закключение

На основании вышеизложенного можно сказать, что использование ингредиентов растительного происхождения при производстве обогащенных хлебобулочных изделий позволяет увеличить содержание в них флавоноидов. Наибольшее количество можно отметить при использовании пищевых ингредиентов, богатых флавоноидами (в данном случае ДГК), но также положительный эффект наблюдается при проращивании зерна за счет его собственных ресурсов. Применение УЗВ позволяет получить микронизированный ДГК, что минимизирует его количественные потери во время проведения технологических процессов, а также интенсифицировать процесс проращивания зерна пшеницы и накопления флавоноидов.

В целом, следует отметить, что фактическое количество флавоноидов в модульных образцах не превышало расчетного максимального значения, что указывает на адекватность рецептур с точки зрения установленных рекомендуемых норм потребления и может быть использовано при разработке новых видов изделий.

Благодарности

Статья выполнена при поддержке Правительства РФ (Постановление № 211 от 16.03.2013 г.), соглашение № 02.A03.21.0011 и при финансовой поддержке государственных заданий № 40.8095.2017/БЧ и гранта РФФИ 18-53-45015.

ЛИТЕРАТУРА

- 1 Нилова Л.П., Маркова К.Ю., Чунин С.А., Калинина И.В. и др. Прогноз развития рынка обогащенных хлебобулочных изделий // Товаровед продовольственных товаров. 2011. № 5. С. 25–30.
- 2 Шестаков С.Д., Красуля О.Н., Богущ В.И., Потороко И.Ю. Технология и оборудование для обработки пищевых сред с использованием кавитационной дезинтеграции. М.: ГИОРД, 2013. 150 с.
- 3 Хмелев В.Н., Попова О.В. Многофункциональные ультразвуковые аппараты и их применение в условиях малых производств, сельском и домашнем хозяйстве: монография. Барнаул: АлтГТУ, 1997. 160 с.
- 4 Dykes L., Rooney L.W. Phenolic compounds in cereal grains and their health benefits // Cereal Food World. 2007. V. 52. № 3. P. 105–111.
- 5 Eberhardt M.V., Lee C.Y., Liu R.H. Antioxidant activity of fresh apples // Nature. 2000. V. 405. P. 903–904.

- 6 García-Lafuente A., Guillamín E., Villares A., Rostagno M.A., Martínez J.A. Flavonoids as anti-inflammatory agents: implications in cancer and cardiovascular disease // Inflammation Research. 2009. V. 58. № 9. P. 537–552. doi: 10.1007/s00011-009-0037-3

- 7 Holtekjolen A.K., Kinitz C., Knutsen S.H. Flavanol and bound phenolic acid contents in different barley varieties // Journal of Agricultural and Food Chemistry. 2006. V. 54. № 6. P. 2253–2260. doi: 10.1021/jf052394p

- 8 Žilić S., Hadži-Tašković Škalović V., Dodig D., Maksimović V. et al. Antioxidant activity of small grain cereals caused by phenolics and lipid soluble antioxidants // Journal of Cereal Science. 2011. V. 54. № 3. P. 417–424. doi: 10.1016/j.jcs.2011.08.006

- 9 Parhiz H., Roohbakhsh A., Soltani F., Rezaee R. et al. Antioxidant and anti-inflammatory properties of the citrus flavonoids hesperidin and hesperetin: an updated review of their molecular mechanisms and experimental models // Phytotherapy Research. 2015. V. 29. № 3. P. 323–331. doi: 10.1002/ptr.5256

10 Vinayagam R., Xu B. Antidiabetic properties of dietary flavonoids: a cellular mechanism review // Nutrition & metabolism. 2015. V. 12. № 1. P. 60. doi: 10.1186/s12986-015-0057-7

REFERENCES

1 Nilova L.P., Markova K.Yu., Chudin S.A., Kalinina I.V. et al. Forecast of the development of the market of enriched bakery products. *Tovarovod prodovol'stvennykh tovarov* [Commodity expert of food products]. 2011. no. 5. pp. 25–30. (in Russian).

2 Shestakov S.D., Krasulya O.N., Bogush V.I., Potoroko I.Yu. Tekhnologiya i oborudovaniye dlya obrabotki pishchevykh sred s ispol'zovaniyem kavitatsionnoy dezintegratsii [Technology and equipment for the treatment of food environments using cavitation disintegration]. Moscow, GIOR, 2013. 150 p. (in Russian).

3 Khmelev V.N., Popova O.V. Mnogofunktsional'nyye ul'trazvukovyye apparaty i ikh primeneniye v usloviyakh mal'kikh proizvodstv, sel'skom i domashnem khozyaystve [Multifunctional ultrasonic devices and their application in small industrial, agricultural and household conditions: a monograph]. Barnaul, AltSTU, 1997. 160 p. (in Russian).

4 Dykes L., Rooney L.W. Phenolic compounds in cereal grains and their health benefits. *Cereal Food World*. 2007. vol. 52. no. 3. pp. 105–111.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Ирина В. Калинина к.т.н., доцент, кафедра пищевые и биотехнологии, Южно-Уральский государственные университет, пр-т Ленина, 76, г. Челябинск, 454080, Россия, 9747567@mail.ru

Ирина Ю. Потороко д.т.н., профессор, пищевые и биотехнологии, Южно-Уральский государственный университет, пр-т Ленина, 76, г. Челябинск, 454080, Россия, irina_potoroko@mail.ru

Наталья В. Науменко к.т.н., доцент, кафедра пищевые и биотехнологии, Южно-Уральский государственный университет, пр-т Ленина, 76, г. Челябинск, 454080, Россия, naumenko_natalya@mail.ru

Артём В. Малинин магистрант, кафедра пищевые и биотехнологии, Южно-Уральский государственный университет, пр-т Ленина, 76, г. Челябинск, 454080, Россия, artemmalinin3@gmail.com

Арам В. Цатуров магистрант, кафедра пищевые и биотехнологии, Южно-Уральский государственный университет, пр-т Ленина, 76, г. Челябинск, 454080, Россия, aram-chel@mail.ru

Ринат И. Фаткуллин к.т.н., кафедра пищевые и биотехнологии, Южно-Уральский государственный университет, пр-т Ленина, 76, г. Челябинск, 454080, Россия, 5792687@mail.ru

КРИТЕРИЙ АВТОРСТВА

Все авторы в равной степени принимали участие в написании рукописи и несут ответственность за плагиат

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ПОСТУПИЛА 20.05.2019

ПРИНЯТА В ПЕЧАТЬ 07.06.2019

5 Eberhardt M.V., Lee C.Y., Liu R.H. Antioxidant activity of fresh apples. *Nature*. 2000. vol. 405. pp. 903–904.

6 García-Lafuente A., Guillamín E., Villares A., Rostagno M.A., Martínez J.A. Flavonoids as anti-inflammatory agents: implications in cancer and cardiovascular disease. *Inflammation Research*. 2009. vol. 58. no. 9. pp. 537–552. doi: 10.1007/s00011-009-0037-3

7 Holtekjolen A.K., Kinitz C., Knutsen S.H. Flavanol and bound phenolic acid contents in different barley varieties. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2006. vol. 54. no. 6. pp. 2253–2260. doi: 10.1021/jf052394p

8 Žilić S., Hadži-Tašković Šukalović V., Dodig D., Maksimović V. et al. Antioxidant activity of small grain cereals caused by phenolics and lipid soluble antioxidants. *Journal of Cereal Science*. 2011. vol. 54. no. 3. pp. 417–424. doi: 10.1016/j.jcs.2011.08.006

9 Parhiz H., Roohbakhsh A., Soltani F., Rezaee R. et al. Antioxidant and anti-inflammatory properties of the citrus flavonoids hesperidin and hesperetin: an updated review of their molecular mechanisms and experimental models. *Phytotherapy Research*. 2015. vol. 29. no. 3. pp. 323–331. doi: 10.1002/ptr.5256

10 Vinayagam R., Xu B. Antidiabetic properties of dietary flavonoids: a cellular mechanism review. *Nutrition & metabolism*. 2015. vol. 12. no. 1. pp. 60. doi: 10.1186/s12986-015-0057-7

INFORMATION ABOUT AUTHORS

Irina V. Kalinina Cand. Sci. (Engin.), associate professor, food and biotechnology department, South Ural State University, Lenin Av., 76. Chelyabinsk, 454080, Russia, 9747567@mail.ru

Irina Yu. Potoroko Dr. Sci. (Engin.), professor, food and biotechnology department, South Ural State University, Lenin Av., 76. Chelyabinsk, 454080, Russia, irina_potoroko@mail.ru

Natalia N. Naumenko Cand. Sci. (Engin.), associate professor, food and biotechnology department, South Ural State University, Lenin Av., 76. Chelyabinsk, 454080, Russia, naumenko_natalya@mail.ru

Artem V. Malinin master student, food and biotechnology department, South Ural State University, Lenin Av., 76. Chelyabinsk, 454080, Russia, artemmalinin3@gmail.com

Aram V. Tsaturov master student, food and biotechnology department, South Ural State University, Lenin Av., 76. Chelyabinsk, 454080, Russia, aram-chel@mail.ru

Rinat I. Fatkullin Cand. Sci. (Engin.), food and biotechnology department, South Ural State University, Lenin Av., 76. Chelyabinsk, 454080, Russia, 5792687@mail.ru

CONTRIBUTION

All authors are equally involved in the writing of the manuscript and are responsible for plagiarism

CONFLICT OF INTEREST

The authors declare no conflict of interest.

RECEIVED 5.20.2019

ACCEPTED 6.7.2019