

Том 53, № 4, 2023
Vol. 53, № 4, 2023

ISSN 2074-9414
ISSN 2313-1748

ТЕХНИКА И ТЕХНОЛОГИЯ ПИЩЕВЫХ ПРОИЗВОДСТВ

Food Processing:
Techniques and Technology



1} Кемеровский
государственный
университет
Объединяем
знания и людей

Национальный, рецензируемый научный журнал, посвященный вопросам пищевой промышленности и смежных отраслей. Журнал включен в SCOPUS, RSCI, Перечень ВАК (категория K1).

Миссия: создание, агрегация, поддержка и распространение научно-образовательного контента в области пищевой промышленности, объединение усилий различных категорий исследователей, вузовской и научной

интеллигенции, преодоление разрыва между изданиями регионального, национального и федерального уровней. Журнал призван освещать актуальные проблемы в пищевой и смежных отраслях, продвигать новые перспективные технологии в широкую аудиторию научных и практических работников, преподавателей, аспирантов, студентов, предпринимателей, а также оказывать содействие в подготовке высококвалифицированных специалистов.

В журнале публикуются научные и обзорные статьи, краткие научные сообщения по направлениям: пищевые системы; биотехнология; технология пищевых производств; санитария и гигиена; экология; биобезопасность; частная зоотехния; электро-технологии, машины и оборудование для агропромышленного комплекса. Подробная информация для авторов и читателей представлена на сайте <https://fptt.ru>

Главный редактор:

А.Ю. Просеков, Кемеровский государственный университет, Кемерово, Россия.

Зам. главного редактора:

А.Н. Петров, Всероссийский научно-исследовательский институт молочной промышленности, Москва, Россия;

О.О. Бабич, Балтийский федеральный университет имени Иммануила Канта, Калининград, Россия.

Редакционная коллегия:

Е.В. Абакумов, Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия;

И.В. Алтухов, ООО «Промышленные технологические инновации», Иркутск, Россия;

В.В. Бахарев, Самарский государственный технический университет, Самара, Россия;

С.М. Бычкова, Санкт-Петербургский государственный аграрный университет, Пушкин, Россия;

А.Г. Галстян, Всероссийский научно-исследовательский институт молочной промышленности, Москва, Россия;

И.А. Ганиева, АНО «Научно-образовательный центр «Кузбасс», Кемерово, Россия;

И.Ф. Горлов, Поволжский научно-исследовательский институт производства и переработки мясомолочной продукции, Волгоград, Россия;

Г.М. Гриценко, Сибирский федеральный научный центр агробиотехнологий РАН, Краснообск, Россия;

Н.И. Дунченко, Российский государственный аграрный университет – МСХА К.А. Тимирязева, Москва, Россия;

И.А. Евдокимов, Северо-Кавказский федеральный университет, Ставрополь, Россия;

Ж.С. Есимбеков, Университет имени Шакарима города Семей, Семей, Казахстан;

А.В. Заушишнина, Кемеровский государственный университет, Кемерово, Россия;

А.П. Каледин, Российский государственный аграрный университет – МСХА имени К.А. Тимирязева, Москва, Россия;

А.Б. Капранова, Ярославский государственный технический университет, Ярославль, Россия;

Н.И. Кашеваров, Сибирский федеральный научный центр агробиотехнологий РАН, Краснообск, Россия;

В.Г. Лобанов, Кубанский государственный технологический университет, Краснодар, Россия;

Г.О. Магомедов, Воронежский государственный университет инженерных технологий, Воронеж, Россия;

О.А. Неверова, Кемеровский государственный университет, Кемерово, Россия;

С.Л. Тихонов, Уральский государственный аграрный университет, Екатеринбург, Россия;

О.А. Фролова, Нижегородский государственный инженерно-экономический университет, Княгинино, Россия;

Г.Ш. Хайдаров, Узбекско-Финский педагогический институт, г. Самарканд, Узбекистан;

В.Н. Хмелев, Бийский технологический институт Алтайского государственного технического университета, Бийск, Россия;

Ю.С. Хотимченко, Дальневосточный федеральный университет, Владивосток, Россия;

С.В. Шахов, Воронежский государственный университет инженерных технологий, Воронеж, Россия;

И.В. Юдаев, Кубанский государственный аграрный университет имени И.Т. Трубилина, Краснодар, Россия.

Материалы публикуются на условиях лицензии CC BY 4.0.

Выпускающий редактор: А.И. Лосева

Ответственный за выпуск: А.А. Кирыкова

Литературный редактор: А.Ю. Курникова

Литературный редактор (англ. язык) Н.В. Рабкина

Дизайн и компьютерная верстка Е.В. Волкова

Редактор онлайн версии: Е.В. Дмитриева

Учредитель, издатель и редакция: Кемеровский государственный университет, 650000, Россия, Кемеровская обл. – Кузбасс, г. Кемерово, Красная, 6

тел.: +7 (3842) 58-80-24

e-mail: fptt98@gmail.com

Адрес типографии: Кемеровский государственный университет, 650000, Россия, Кемеровская обл. – Кузбасс, г. Кемерово, пр. Советский, 73

16+

Дата выхода в свет 26.12.23

Усл. п. л. 22,55. Тираж 500 экз.

Цена свободная. Выходит 4 раза в год

Подписной индекс по интернет-каталогу агентства «Книга-Сервис» – 41672

Свидетельство о регистрации СМИ
ПИ № ФС77-72313 выдано Роскомнадзор

© Кемеровский государственный университет, 2023. © Авторы, 2023

Колонка главного редактора
<https://fptt.ru>

Агропромышленный комплекс играет важную роль в обеспечении продовольственной безопасности и социально-экономического развития страны. В 2023 г. данная отрасль экономики России продолжила свое динамичное развитие и показала стабильный рост благодаря внедрению передовых технологий и реализации комплексных мер и программ государственной поддержки сельских жителей.

Значимыми отраслями сельского хозяйства в России, обеспечивающими население основными видами продовольствия, остаются животноводство и растениеводство. Доля растениеводства превышает половину общей суммарной стоимости произведенной сельскохозяйственной продукции на территории нашей страны. Наличие большого количества пахотных земель, расположенных в благоприятных климатических условиях, позволяет российским аграриям выращивать разнообразные сельскохозяйственные культуры.

Крупнейшим направлением растениеводческой отрасли сельского хозяйства является кормопроизводство. Более 75 % времени, энергии и средств, расходуемых в растениеводстве, затрачивается на производство кормов. Для этого используется 78,6 % сельскохозяйственных угодий России, в том числе 60 % пашни. Объемы производства кормов в физическом исчислении намного превышают валовое производство другой продукции растениеводства. Динамичное развитие животноводства России основано на стабильности кормовой базы.

Кормопроизводство обеспечивает эффективное управление сельскохозяйственными землями, агроландшафтами, рациональным природопользованием и охраной окружающей среды. Также кормопроизводство играет роль в решении проблем обогащения почвы органическим веществом и биологическим азотом, улучшении фитосанитарного состояния посевов и физико-биохимических свойств почвы, сохранении ее от эрозии.

Известным российским ученым в области растениеводства и кормопроизводства является доктор сельскохозяйственных наук, профессор, академик РАН Николай Иванович Кашеваров. Его научная и

профессиональная деятельность связана с развитием сельского хозяйства Сибирского региона. Академик Н. И. Кашеваров является членом Президиума Российской академии наук, заместителем председателя и членом президиума Сибирского отделения РАН, председателем Объединенного ученого совета Сибирского отделения РАН по сельскохозяйственным наукам. Также ученый руководит научным направлением Сибирского НИИ кормов СФНЦА РАН.

Научная деятельность Николая Ивановича посвящена решению теоретических вопросов и поиску методических подходов для стабильного и эффективного функционирования отрасли кормопроизводства, а также разработке практических вопросов максимальной реализации биологического потенциала кормовых культур в Сибири. Под его руководством проведены комплексные исследования по возделыванию гибридов кукурузы различной скороспелости. При участии Николая Ивановича проведена работа по адаптации сои сибирской селекции в качестве зернобобовой и кормовой культуры, а также по разработке технологии возделывания и системы защиты кормовых бобов. Продолжаются исследования технологий возделывания новых для Сибири кормовых культур. Работы Н. И. Кашеварова имеют большое значение для кормопроизводства как отрасли в системе ландшафтного земледелия. Также Николай Иванович ведет активную работу по координации и совершенствованию научно-исследовательской деятельности научных учреждений Сибири и занимается вопросами подготовки высококвалифицированных кадров для АПК региона.

За заслуги и научные достижения академику РАН Н. И. Кашеварову присвоено почетное звание «Заслуженный деятель науки Российской Федерации». Также он награжден медалью ордена «За заслуги перед Отечеством» II степени и множеством других наград.

3 января 2024 г. Николай Иванович Кашеваров отмечает 70-летний юбилей. Редакция журнала сердечно поздравляет Николая Ивановича со знаменательной датой. Желаем крепкого здоровья и оптимизма, неутомимых сил и вдохновения для новых научных свершений, а также поддержки близких, коллег и учеников!

Ректор, главный редактор,
член-корр. РАН, профессор,
Заслуженный работник высшей школы РФ,
Лауреат премии Правительства РФ в области науки и техники

А. Ю. Просеков 

Пост-релиз

Международный симпозиум в КемГУ: итоги и планы

Кемеровский государственный университет из года в год становится центром проведения мероприятий различного уровня в области пищевых технологий и биотехнологий. В начале ноября 2023 г. на базе КемГУ состоялся II Международный симпозиум «Пищевые здоровьесберегающие технологии», приуроченный к 50-летию вуза.

В мероприятиях симпозиума приняли участие ученые и специалисты, представители предприятий пищевой и перерабатывающей промышленности, а также сотрудники медицинских организаций. География участников Симпозиума была обширная. Российские регионы были представлены участниками из Москвы, Санкт-Петербурга, Новосибирской и Томской областей, Алтайского, Ставропольского и Забайкальского краев, республики Тыва, а также Кемеровской области – Кузбасса. Гостями мероприятия стали специалисты из Беларуси, Казахстана и Китая.

Двухдневная программа Симпозиума была насыщенной и интересной. В ходе пленарного заседания участники оценили новые возможности в современном технологическом образовании и в практико-ориентированном обучении, обсудили перспективы развития перерабатывающих предприятий и научные достижения в производстве пищевых продуктов. Проведены круглые столы по обмену опытом и поиску бизнес-партнеров.

В рамках Симпозиума Технологическим институтом пищевой промышленности КемГУ совместно с компаниями-партнерами из разных регионов России была организована выставка «Инновации в пищевой промышленности и биотехнологии».

На секционных заседаниях участники обсудили теоретические и прикладные аспекты биотехнологии и пищевой химии, инновационные технологии переработки сырья животного происхождения, фундаментальные и прикладные аспекты переработки растительного сырья, современные достижения индустрии питания и медицинские аспекты влияния питания на здоровье населения.

Участники и гости Симпозиума поддержали идею проведения в сентябре 2024 г. юбилейного мероприятия, посвященного 90-летию со дня рождения Льва Александровича Остроумова – выдающегося ученого и учителя. Научная и педагогическая деятельность Льва Александровича была посвящена вопросам развития молочной отрасли России. Благодаря неограниченному вкладу Льва Александровича Остроумова в 90-х годах был открыт один из первых за Уралом Диссертационный совет, который выпустил несколько сотен кандидатов и докторов наук по пищевым и инженерным направлениям. Ученики мэтра успешно продолжают его дело.

20–21 сентября 2024 г.
в Кемеровском государственном университете
состоится



III МЕЖДУНАРОДНЫЙ СИМПОЗИУМ
ПИЩЕВЫЕ
ЗДОРОВЬЕСБЕРЕГАЮЩИЕ ТЕХНОЛОГИИ

посвященный 90-летию со дня рождения
Льва Александровича Остроумова

Контакты: +7 (3842) 39-09-79, conf-tipp@ya.ru
Место проведения: г. Кемерово, бульвар Строителей, д. 47

ТИПП
ТЕХНОЛОГИЯ
УСПЕХА



Food Processing: Techniques and Technology is an open access, doubleblind peer-reviewed quarterly journal that encompasses a wide range in the food industry and agricultural science in Russia and neighboring regions.

The Journal is accepted by SCOPUS and Russian Science Citation Index. Our open access policy follows the Budapest Open Access Initiative (BOAI).

The Journal's mission is to present, integrate and disseminate the most important results of fundamental and applied research in the food industry of Russia and the CIS countries. We aim to create scientific content that would reflect the current state of food science.

The Journal is addressed to practicing professionals, scientists, academics, and students.

The Journal publishes scientific articles, reviews, and research briefs in the following areas: food systems; biotechnology; food production technology; sanitation and health; ecology; biosecurity; zootechnics; electro-technologies, agro-industrial machines and equipment. For submission instructions, subscription and all other information visit this journal online at fptt.ru/en

Editor-in-Chief

Alexander Yu. Prosekov, Kemerovo State University, Kemerovo, Russia.

Deputy Editor-in-Chief

Andrey N. Petrov, All-Russia Dairy Research Institute, Moscow, Russia;

Olga O. Babich, Immanuel Kant Baltic Federal University, Kaliningrad, Russia.

Editorial Board Member

Evgeny V. Abakumov, St. Petersburg State University, St. Petersburg, Russia;

Igor V. Altukhov, Industrial Technological Innovations LLC, Irkutsk, Russia;

Vladimir V. Bakharev, Samara State Technical University, Samara, Russia;

Svetlana M. Bychkova, St. Petersburg State Agrarian University, Pushkin, Russia;

Aram G. Galstyan, All-Russia Dairy Research Institute, Moscow, Russia;

Irina A. Ganeeva, Research and Academic Centre «Kuzbass», Kemerovo, Russia;

Ivan F. Gorlov, Povolzhsky Research Institute of Production and Processing of Meat and Dairy Products, Volgograd, Russia;

Galina M. Gritsenko, Siberian Federal Scientific Centre of Agro-Bio Technologies of the Russian Academy of Sciences, Krasnoobsk, Russia;

Nina I. Dunchenko, Russian State Agrarian University – Moscow Timiryazev Agricultural Academy, Moscow, Russia;

Ivan A. Evdokimov, North-Caucasus Federal University, Stavropol, Russia;

Zhanibek S. Yessimbekov, Shakarim University of Semey, Semey, Kazakhstan;

Alexandra V. Zaushintsena, Kemerovo State University, Kemerovo, Russia;

Anatoly P. Kaledin, Russian State Agrarian University – Moscow Timiryazev Agricultural Academy, Moscow, Russia;

Anna B. Kapranova, Yaroslavl State Technical University, Yaroslavl, Russia;

Nikolay I. Kashevarov, Siberian Federal Scientific Centre of Agro-Bio Technologies of the Russian Academy of Sciences, Krasnoobsk, Russia;

Vladimir G. Lobanov, Kuban State Technological University, Krasnodar, Russia;

Gazibeg O. Magomedov, Voronezh State University of Engineering Technologies, Voronezh, Russia;

Olga A. Neverova, Kemerovo State University, Kemerovo, Russia;

Sergei L. Tikhonov, Ural State Agrarian University, Yekaterinburg, Russia;

Olga A. Frolova, Nizhni Novgorod Engineering-economic State University, Knyaginino, Russia;

Gayrat Sh. Haydarov, Uzbek-Finnish Pedagogical Institute, Samarqand, Uzbekistan;

Vladimir N. Khmelev, Biysk Technological Institute, Altai State Technical University, Biysk, Russia;

Yuri S. Khotimchenko, Far Eastern Federal University, Vladivostok, Russia;

Sergey V. Shakhov, Voronezh State University of Engineering Technologies, Voronezh, Russia;

Igor V. Yudaev, Kuban State Agrarian University named after I.T. Trubilin, Krasnodar, Russia.

All articles are licensed under a Creative Commons Attribution 4.0 International License.

Executive Editor: A.I. Loseva

Publishing Editor: A.A. Kiryakova

Editor and Proofreader: A.Yu. Kurnikova

English Editor: N.V. Rabkina

Computer layout design: E.V. Volkova

Website Editor: E.V. Dmitrieva

Founder, Publisher and Editorial: Kemerovo State University, 6, Krasnaya Str., Kemerovo, Kemerovo region – Kuzbass, 650000, Russia
phone: +7(3842) 58-80-24
e-mail: fptt98@gmail.com

Printing Office: Kemerovo State University, Sovetskiy Ave. 73, Kemerovo, Kemerovo region – Kuzbass, 650000, Russia

Date of issue December 26, 2023

Printed sheet 22.55 conventional printed
Circulation 500 cop.

Open price. Issued 4 times a year

Full-texts are available online at fptt.ru/en,
elibrary.ru, e.lanbook.com, cyberleninka.ru

© 2023, Kemerovo State University

© 2023, Authors

<https://doi.org/10.21603/2074-9414-2023-4-2465>
<https://elibrary.ru/CDQSDR>

Оригинальная статья
<https://fptt.ru>

Мицеллярный казеин в процессах сычужной коагуляции, обезвоживания и созревания сырной массы



Е. И. Мельникова^{ID}, Е. В. Богданова^{*ID},
Е. С. Рудниченко^{ID}, М. С. Чекмарева^{ID}

Воронежский государственный университет инженерных технологий^{ROR}, Воронеж, Россия

Поступила в редакцию: 03.04.2023

Принята после рецензирования: 12.05.2023

Принята к публикации: 06.06.2023

*Е. В. Богданова: ek-v-b@yandex.ru,

<https://orcid.org/0000-0001-5053-2273>

Е. И. Мельникова: <https://orcid.org/0000-0002-3474-2534>

Е. С. Рудниченко: <https://orcid.org/0009-0001-6176-2952>

М. С. Чекмарева: <https://orcid.org/0009-0002-8003-5758>

© Е. И. Мельникова, Е. В. Богданова, Е. С. Рудниченко,
М. С. Чекмарева, 2023



Аннотация.

Перспективным направлением фракционирования обезжиренного молока является получение концентрата мицеллярного казеина. Технология его производства позволяет сохранить нативную структуру белков и изменить соотношение казеин:сывороточные белки. Наличие казеина в мицеллярной форме определяет целесообразность его применения при производстве молокоемких продуктов для сокращения норм расхода сырья. Цель работы – изучение влияния концентрата мицеллярного казеина на процессы сычужной коагуляции, способность сгустка к обезвоживанию и созреванию сырной массы.

Объектами исследования являлись обезжиренное молоко, концентрат мицеллярного казеина, нормализованные смеси и образцы сыра Российского. Химический состав и свойства исходного сырья, нормализованных смесей, сычужных сгустков и сырной массы определяли с помощью арбитражных и общепринятых методик.

Установлено, что соотношение между казеином и сывороточными белками 95:5 обеспечивает сокращение индукционного периода гелеобразования, интенсификацию дестабилизации мицелл казеина с последующей флокуляцией, ускорение синерезиса и повышение прочностных свойств сгустка. Высокая массовая доля белка в 2 раза сокращает продолжительность второго нагревания сырного зерна с концентратом мицеллярного казеина и его вымешивания, повышает выход готового продукта до 15 %. В опытном образце отмечено увеличение продолжительности лаг-фазы роста заквасочных культур и переход их в экспоненциальную фазу к 30 суткам. Выживаемость заквасочной микрофлоры в опытном образце сыра на 60 сутки была выше, чем в контрольном, что обеспечило различия в аминокислотном составе готовых продуктов.

Концентрат мицеллярного казеина влияет на сычужную коагуляцию, способность сгустка к обезвоживанию и созревание сырной массы. Его применение в технологии сыра Российского требует увеличения продолжительности активизации закваски, использования заквасочных культур с высокой протеолитической активностью и способностью гидролизировать горькие пептиды, внесения дополнительного количества сычужного фермента, сокращения в 2 раза продолжительности второго нагревания, вымешивания сырного зерна и созревания сырной массы до 45 суток.

Ключевые слова. Молоко, микрофильтрация, белок, свертываемость, сыр, протеолиз, твердость, связанность, упругость

Финансирование. Работа выполнена в рамках проекта с использованием мер государственной поддержки развития кооперации российской образовательной организации высшего образования и организации реального сектора экономики с целью реализации комплексного проекта по созданию высокотехнологичного производства, предусмотренного ПП Российской Федерации от 09 апреля 2010 г. № 218, по теме «Создание высокотехнологичного импортозамещающего производства белковых ингредиентов на основе молочного сырья для продуктов здорового питания» (соглашение № 075-11-2022-020 от 07.04.2022 г.). Проект выполняется при финансовой поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (Минобрнауки России)^{ROR}. НИОКТР проводятся в Воронежском государственном университете инженерных технологий (ВГУИТ)^{ROR}.

Для цитирования: Мицеллярный казеин в процессах сычужной коагуляции, обезвоживания и созревания сырной массы / Е. И. Мельникова [и др.] // Техника и технология пищевых производств. 2023. Т. 53. № 4. С. 642–651. <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2023-4-2465>

Micellar Casein in Rennin Coagulation, Cheese Dehydration, and Ripening



Elena I. Melnikova^{ID}, Ekaterina V. Bogdanova*^{ID},
Elena S. Rudnichenko^{ID}, Mariya S. Chekmareva^{ID}

Voronezh State University of Engineering Technologies^{ROR}, Voronezh, Russia

Received: 03.04.2023
Revised: 12.05.2023
Accepted: 06.06.2023

*Ekaterina V. Bogdanova: ek-v-b@yandex.ru,
<https://orcid.org/0000-0001-5053-2273>
Elena I. Melnikova: <https://orcid.org/0000-0002-3474-2534>
Elena S. Rudnichenko: <https://orcid.org/0009-0001-6176-2952>
Mariya S. Chekmareva: <https://orcid.org/0009-0002-8003-5758>

© E.I. Melnikova, E.V. Bogdanova, E.S. Rudnichenko,
M.S. Chekmareva, 2023



Abstract.

Micellar casein concentrate is a promising fractionation agent in skimmed milk production. It preserves the native structure of protein and changes the ratio of casein and whey proteins. Micellar casein concentrate reduces the consumption of raw materials, which makes it a promising component of milk-intensive protein foods. The research objective was to study the effect of micellar casein concentrate on rennin coagulation, clot dehydration, and cheese ripening.

The study featured skimmed milk, micellar casein concentrate, normalized mixes, and cheese samples of the Rossiiskii brand. The chemical composition and properties were studied by standard methods.

The optimal ratio of casein and whey proteins was 95:5. It reduced the initial gelation time, facilitated casein micelles destabilization and subsequent flocculation, accelerated syneresis, and improved clot stability. The high protein mass content made it possible to halve the stirring and boiling time, as well as to increase the yield of the finished product by 15%. In the experimental cheese, the starter cultures growth had a longer lag phase while the exponential phase started on ripening day 30. The experimental sample also demonstrated a better starter microflora survival on day 60, which resulted in a better amino acid composition of the finished product.

In this research, micellar casein concentrate was able to affect rennet coagulation, clot dehydration, and ripening. Its application in the standard technology for the Rossiiskii cheese required the following adjustments: a longer starter activation, starter cultures with high proteolytic activity and ability to hydrolyze bitter peptides, extra rennet, a two-fold reduction of second heating and stirring, and at least 45 days or ripening.

Keywords. Milk, microfiltration, proteins, ability to rennin coagulation, cheese, proteolysis, hardness, cohesiveness, springiness, yield

Funding. The research was supported by the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation (Minobrnauka)^{ROR} as part of research topic High-Tech Import-Substituting Healthy Food Products from Dairy-Based Protein Ingredients (Agreement No. 075-11-2022-020, April 07, 2022). The R&D was performed by the Voronezh State University of Engineering Technologies (VSUET)^{ROR} using state support for cooperation between institutions of higher education and real economy organizations, Decree of the Russian Federation Government (April 09, 2010, No. 218).

For citation: Melnikova EI, Bogdanova EV, Rudnichenko ES, Chekmareva MS. Micellar Casein in Rennin Coagulation, Cheese Dehydration, and Ripening. Food Processing: Techniques and Technology. 2023;53(4):642–651. (In Russ.). <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2023-4-2465>

Введение

Современные тенденции развития молочной отрасли ориентированы на фракционирование и выделение отдельных компонентов сухих веществ молока из вторичного молочного сырья. Такой подход основан на том, что молоко представляет собой гетерогенную дисперсную систему с четко выражен-

ной селективностью компонентов по молекулярной массе, размерам и ионной силе. Обезжиренное молоко и пахта содержат от 50 до 75 % сухих веществ цельного молока, наиболее ценный компонент которого – белковый комплекс, представленный фракциями казеина и сывороточных белков [1]. Их высокая биологическая ценность обусловлена

сбалансированным содержанием незаменимых аминокислот, в том числе с разветвленной алифатической боковой цепью (валина, лейцина и изолейцина), а также почти полной перевариваемостью и усвояемостью в желудочно-кишечном тракте человека [2].

В пищевых системах молочные белки проявляют важные физико-химические свойства, такие как жиро- и влагоудерживание, эмульгирование, пено- и структурообразование, и выполняют ряд функционально-технологических функций [3]. Эти ингредиенты не имеют статуса пищевых добавок и литеры с индексом «Е», обеспечивая «чистую» этикетку готового пищевого продукта.

Технологии традиционных белковых ингредиентов (казеины, казеинаты и копреципитаты) не обеспечивают сохранение их нативных свойств. К более востребованным пищевым добавкам с высокой биологической ценностью относятся белковые ингредиенты, полученные с применением мембранных технологий фракционирования компонентов молочного сырья: концентраты и изоляты сывороточных белков, мицеллярный казеин [4–7]. Сохранение нативных свойств данных ингредиентов позволяет обеспечить их высокую термостабильность и пенообразующую способность, лучшую растворимость и низкую скорость протекания реакции меланоидинообразования при тепловой обработке [8].

Перспективным направлением фракционирования обезжиренного молока является получение мицеллярного казеина и нативной сыворотки. Технология их производства предусматривает последовательное применение микро- и диафильтрации. Это позволяет фракционировать казеин в мицеллярной форме с сохранением нативной структуры белков и изменением соотношения казеин:сывороточные белки в сторону снижения содержания последних [9–11]. В зависимости от размера пор мембран, используемых для фракционирования (0,14 и 0,1 мкм), соотношение казеин:сывороточные белки может находиться в пределах от 90:10 до 95:5. Высокая массовая доля казеина в мицеллярной форме определяет целесообразность применения концентрата мицеллярного казеина при производстве молокоемких белковых продуктов для сокращения норм расхода сырья (творог и сыр). Технологические процессы при выработке таких продуктов с концентратом мицеллярного казеина имеют отличия от традиционных, т. к. в нормализованной смеси изменяется соотношение массовая доля белков:массовая доля лактозы в сторону снижения последней и уменьшается содержание свободных аминокислот. Это влияет на развитие микрофлоры заквасочных культур в процессе сквашивания и созревания [12–15].

Рядом авторов проведены исследования по изучению возможности применения концентрата мицеллярного казеина в технологии сыров с чеддеризацией сырной массы [16–21]. Большой научный

и практический интерес представляет исследование технологических процессов производства сыров с низкой температурой второго нагревания из нормализованного сырья с концентратом мицеллярного казеина.

Цель работы – изучение влияния концентрата мицеллярного казеина на процессы сычужной коагуляции нормализованной смеси, способность сгустка к обезвоживанию и созревание полученной сырной массы. Для ее достижения сформулировали следующие задачи:

- исследовать реологические характеристики нормализованной смеси с концентратом мицеллярного казеина в процессе сычужной коагуляции;
- определить скорость развития заквасочной микрофлоры в нормализованной смеси с концентратом мицеллярного казеина и ее активность в процессе обработки сырного сгустка и созревания;
- изучить физико-химические и реологические показатели сырного теста с концентратом мицеллярного казеина в процессе созревания для последующей корректировки технологии.

Объекты и методы исследования

Объектами исследования являлись обезжиренное молоко, сливки, концентрат мицеллярного казеина, нормализованные смеси и образцы сыров с низкой температурой второго нагревания, выработанные по технологии сыра Российского в условиях ПАО МК «Воронежский» филиал «Калачеевский сырзавод», г. Калач Воронежской области. Для получения обезжиренного молока и сливок цельное молоко было подвергнуто предварительной очистке и последующему сепарированию при $t = 45 \pm 2$ °С. Обезжиренное молоко пастеризовали при $t = 76 \pm 2$ °С и направляли на установку микрофильтрации Chemtron GmbH (поставщик ООО «Хемтрон-Восток», г. Екатеринбург) с применением полупроницаемых керамических мембран с диаметром пор 0,1 мкм при $t = 10–15$ °С и давлении 0,2–0,3 МПа до массовой доли сухих веществ в концентрате 14 ± 2 %. Далее проводили последовательно две ступени диафильтрации полученного концентрата двойным объемом обратнo-осмотической воды по отношению к объему концентрата на каждой ступени диафильтрации при режимах работы мембранной установки, аналогичных процессу микрофильтрации. В результате получили концентрат в объеме, равном объему первоначально отправленного на диафильтрацию сырья. Для выработки сыра использовали две нормализованные смеси: 1 – из обезжиренного молока и сливок (традиционная технология, контрольный образец), 2 – из концентрата мицеллярного казеина и сливок (опытный образец) с предварительно установленным химическим составом и основными физико-химическими показателями (табл. 1).

Таблица 1. Химический состав и свойства сырья для выработки сыра Российский

Table 1. Raw materials in the standard Rossiiskii cheese formulation: chemical composition and properties

Наименование показателя	Обезжиренное молоко	Сливки	Концентрат мицеллярного казеина	Нормализованная смесь с концентратом мицеллярного казеина (опытный образец)	Нормализованная смесь (контрольный образец)
Массовая доля сухих веществ, %	8,51–9,45	44,75	12,24–15,60	13,05	12,93
Массовая доля общего белка, %	3,27–3,86	1,50	10,60–13,66	6,41	3,78
Массовая доля сывороточных белков, %	0,58–0,85	0,27	0,50–1,06	0,20	0,73
Содержание небелкового азота, %	0,027–0,031	0,017–0,020	0,022–0,025	0,021	0,030
Соотношение казеин/сывороточные белки в общей массовой доле истинного белка	78:22–81:19	80:20	92:8–95:5	95:5	80:20
Массовая доля жира, %	0,01–0,02	40,50	0,18–0,24	6,03	3,80
Массовая доля лактозы, %	4,34–4,48	2,11	Менее 0,70	0,50	4,72
Титруемая кислотность, °Т	17–18	12	19–24	17	17
Плотность, кг/м ³	1033–1035	985	1031–1035	1032	1028

Отбор проб объектов исследования и подготовку их к анализу проводили в соответствии с ГОСТ 26809.1-2014. Химический состав и свойства исходного сырья, нормализованных смесей, сычужных сгустков, сырной массы и сырного теста определяли с помощью стандартных арбитражных и общепринятых в исследовательской практике методик, а также модифицированных, усовершенствованных и специальных, выполненных с применением современных приборов и информационных технологий в условиях лаборатории «Молоко» ФГАНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт молочной промышленности» (г. Москва), кафедры технологии продуктов животного происхождения ФГБОУ ВО «Воронежский государственный университет инженерных технологий», ПАО МК «Воронежский» и ООО «МОЛЛАБ» (г. Воронеж) [22, 23].

Образцы сыра были выработаны из полученных нормализованных смесей по традиционной технологии, включающей следующие операции: пастеризацию при $t = 74 \pm 2$ °С, $\tau_{\text{выд}} = 20$ с; охлаждение до температуры свертывания $t = 32 \pm 1$ °С; внесение в смесь мезофильной закваски прямого внесения CHN-19 50U (Chr. Hansen, Дания) для предварительной активизации в течение 60 мин и повышения титруемой кислотности не менее чем на 1 °Т; добавление хлорида кальция из расчета 30 г сухой безводной соли на 100 кг смеси и нитрата натрия из расчета 10 г сухой безводной соли на 100 кг смеси; внесение молокосвертывающего фермента CHY-MAX M с содержанием химозина не менее 9 % и активностью 1000 IMCU/см³ (Chr. Hansen, Дания) в минимальной дозировке для контрольного образца (из расчета 20 IMCU на 1 л смеси) и в максимальной дозировке

для опытного образца (из расчета 50 IMCU на 1 л смеси); сычужную коагуляцию при $t = 32 \pm 2$ °С в течение 40 мин; разрезку сгустка, постановку сырного зерна до размера 7 ± 1 мм и его вымешивание при $t = 32 \pm 2$ °С в течение 20 мин; второе нагревание до $t = 38 \pm 1$ °С в течение 20 мин для контрольного образца и 10 мин для опытного и вымешивание сырного зерна при этой температуре 30 и 10 мин соответственно до его готовности к формованию и размера 6 ± 1 мм; удаление сыворотки кислотностью 16 и 10 °Т для контрольного и опытного образцов соответственно; формование насыпью; самопрессование в течение 60 мин и прессование в течение 12 ч с двумя перепрессовками и увеличением давления от 10 до 50 кПа ($pH_{\text{к.обр.}} = 5,22$; $pH_{\text{опыт.обр.}} = 5,29$); посолку сыра в рассоле с концентрацией хлорида натрия 20 масс.% в течение 2 ч; обсушку на стеллажах при $t = 10\text{--}12$ °С 2 суток; упаковку под вакуумом в термоусадочную пленку; созревание в камере при $t = 11 \pm 1$ °С и относительной влажности воздуха 85 % 60 суток [24, 25].

Вязкость нормализованной смеси определяли с применением ротационного вискозиметра Brookfield RVDV-II+Pro («Brookfield Engineering Laboratories, Inc.», США). Измерение осуществляли посредством пересчета крутящего момента, необходимого для вращения шпинделя прибора с постоянной скоростью при его погружении в исследуемую среду с температурой 32 ± 2 °С в процессе сычужной коагуляции. Значения вязкости в конкретный момент времени τ регистрировались на дисплее прибора.

Твердость, упругость и эластичность сырного теста. Структурно-механические свойства образцов устанавливали на анализаторе текстуры TA.XT Exp-

Таблица 2. Показатели сыропригодности образцов

Table 2. Cheese suitability indicators

Наименование показателя	Класс для	
	нормализованной смеси с концентратом мицеллярного казеина (опытный образец)	нормализованной смеси (контрольный образец)
Сычужная проба	1	2
Сычужно-бродильная проба	I	I

ressC («Stable Micro Systems», Англия) с применением сферического зонда и метода Роквелла. Численные характеристики получили с помощью программного обеспечения Exponent Software.

Аминокислотный состав. Для анализа использовали систему капиллярного электрофореза P/ACA DQ («SCIEX LLC», США). Сущность метода заключается в кислотном гидролизе анализируемой пробы с последующим переводом аминокислот в свободные формы, получении фенилизотиокарбамильных производных аминокислот, их разделении и количественном учете методом капиллярного электрофореза. Результат рассчитывали с помощью встроенного программного обеспечения 32 Karat Software.

Каждый показатель был измерен от 5 до 10 раз в трехкратной последовательности. Расчеты, построение графиков и их описание проводили методами математической статистики с помощью приложений Microsoft Office 2022 для Windows Home 11. Графические интерпретации и обработку данных осуществляли посредством пакета прикладных программ MathCad 14.0. Результаты представлены в виде среднего значения $n = 4$ (2 партии с 2 повторениями) с учетом стандартного отклонения и рассматривались как статистически отличающиеся при $p < 0,05$. Ограничениями проведенных экспериментальных исследований были погрешности и неопределенности используемых методов анализа, что повлияло на представленные результаты.

Результаты и их обсуждение

Качество сырья, предназначенного для производства сыра, определяется способностью образовывать нормальный по плотности и прочности сгусток, выделяющий сыворотку при его разрезке и обработке. Поэтому перед выработкой сыра в полученных нормализованных смесях определили основные показатели сыропригодности (табл. 2).

Сгусток, полученный из нормализованной смеси с концентратом мицеллярного казеина, был упругим на ощупь с гладкой глянцевой поверхностью, но со слабым синерезисом относительно сгустка, образованного контрольным образцом. Обе нормализованные смеси пригодны для производства сыра в соответствии с ГОСТ 32901-2014.

Сычужная коагуляция казеина – необратимый процесс, скорость которого определяется фракцион-

ным составом и физико-химическими свойствами нормализованной смеси. Реологические показатели сгустка зависят от природы и количества межмицеллярных связей и содержания мицеллярного фосфата кальция в казеине, а их изменения пропорциональны скорости коагуляции. Поэтому различия в протекании сычужной коагуляции в исследуемых образцах установлены в соответствии с реограммами (рис. 1).

Изменение соотношения между казеином и сывороточными белками в нормализованной смеси с концентратом мицеллярного казеина (до 95:5) приводит к сокращению индукционного периода гелеобразования, интенсификации процесса дестабилизации мицелл казеина с последующей флокуляцией, ускорению синерезиса и повышению прочностных свойств сгустка. Кроме того, высокая массовая доля белка сокращает в 2 раза продолжительность вымешивания и второго нагревания сырного зерна, полученного из нормализованной смеси с концентратом мицеллярного казеина, за счет высокой скорости обезвоживания в сравнении с контрольным образцом.

Развитие заквасочной микрофлоры обусловлено целым рядом факторов, к которым относится нали-

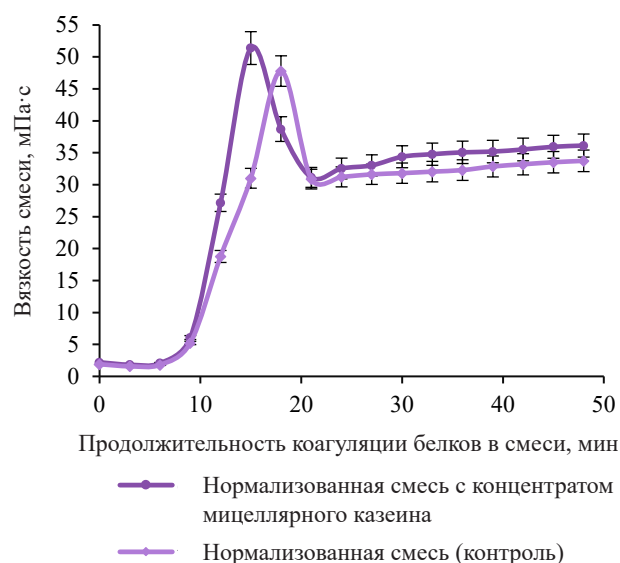


Рисунок 1. Реограммы сычужного свертывания белков молока в исследуемых образцах

Figure 1. Rennet coagulation of milk proteins: rheograms

чие свободной воды, источников энергии (углерод и азот) и минеральных веществ [26–28]. Лактоза – основной источник энергии и субстрат для развития молочнокислых микроорганизмов заквасочных культур. Ее низкая массовая доля в экспериментальной смеси (табл. 1) может негативно влиять на процесс изменения кислотности и созревания сырной массы, а также на формирование органолептических показателей готового продукта. Важное значение для начального развития заквасочной микрофлоры имеет присутствие пептидов и свободных аминокислот, содержание которых в концентрате мицеллярного казеина на 20 % ниже, чем в цельном или обезжиренном молоке (табл. 1). Поэтому предварительно провели активизацию заквасочных культур, представленных штаммами *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris*, *Lactococcus lactis* subsp. *diacetylactis* и *Leuconostoc mesenteroides* subsp. *cremoris*, в нормализованной смеси не менее 60 мин при $t = 32 \pm 1$ °C, а затем сычужную коагуляцию. Повышенное содержание казеина в нормализованной смеси требует применения заквасочных микроорганизмов с высокой протеолитической активностью и способностью гидролизовать пептиды с гидрофобными аминокислотами на концах молекул для предотвращения формирования горечи в готовом продукте.

Следующий этап работы посвящен установлению содержания молочнокислых микроорганизмов в сырной массе в различные периоды ее созревания (рис. 2). В опытном образце отмечено увеличение продолжительности лаг-фазы роста заквасочных культур и их переход в экспоненциальную фазу к 30 суткам созревания сыра. Выживаемость заквасочной микрофлоры в опытном образце сыра на 60 сутки была выше, чем в контрольном. Это объясняется способностью белков при высокой концентрации связывать образующуюся при брожении лактозы молочную кислоту, что способствует дальнейшему активному размножению молочнокислых бактерий. Полученные данные коррелируют с изменением физико-химических показателей сыра в процессе созревания (табл. 3).

Белки сырной массы определяют формирование консистенции сыра. Небелковый азот влияет на проте-

кание микробиологических процессов и протеолиза при созревании сырной массы, т. к. определяет содержание пептидов и аминокислот, а степень усушки сыра снижается [29–31]. Из-за меньшего количества небелкового азота в нормализованной смеси с концентратом мицеллярного казеина возможны изменения в твердости, эластичности и связанности сырного теста после созревания. Прочность сырной массы определяется количеством межмицеллярных связей элементов гелевой структуры, эластичность – подвижностью этих связей, их сохранением или восстановлением новых связей при смещении структурных элементов относительно друг друга. Высокое содержание казеина в мицеллярной форме в опытном образце сыра определило различия в твердости, связанности и упругости в сравнении с контролем (рис. 3). Снижение твердости и упругости консистенции контрольного образца обусловлено более глубокими протеолитическими процессами,

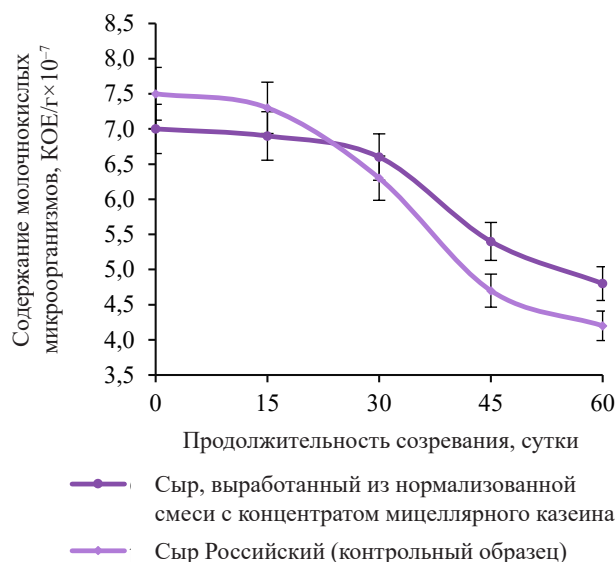


Рисунок 2. Изменение содержания молочнокислых микроорганизмов в исследуемых образцах сыра в процессе созревания

Figure 2. Lactic acid content during ripening

Таблица 3. Изменения физико-химических показателей образцов сыра в процессе созревания

Table 3. Physicochemical parameters during ripening

Наименование показателя, %	Опытный образец сыра с концентратом мицеллярного казеина		Контрольный образец сыра	
	1 сутки	60 суток	1 сутки	60 суток
Массовая доля сухих веществ	55,90 ± 0,20	59,10 ± 0,20	56,30 ± 0,20	57,50 ± 0,20
Массовая доля жира	27,90 ± 0,15	29,30 ± 0,15	28,20 ± 0,15	29,10 ± 0,15
Массовая доля жира в сухом веществе	49,90 ± 0,10	49,60 ± 0,10	50,00 ± 0,10	50,60 ± 0,10
Массовая доля белка	26,20 ± 0,22	25,90 ± 0,22	25,20 ± 0,22	24,80 ± 0,22
Массовая доля соли	1,50 ± 0,10	1,95 ± 0,10	1,40 ± 0,10	1,80 ± 0,10
pH	5,25 ± 0,05	5,70 ± 0,05	5,20 ± 0,05	5,55 ± 0,05

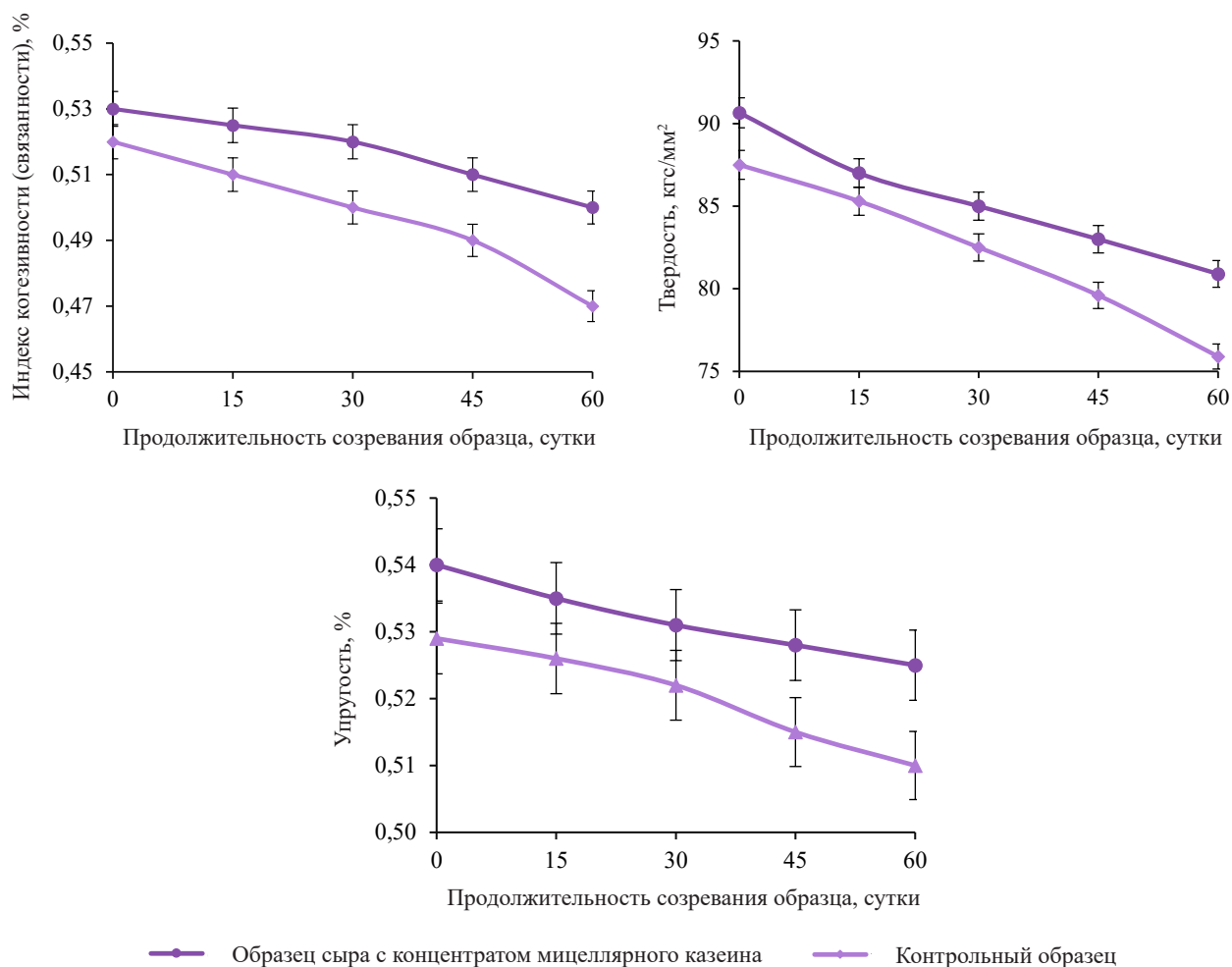


Рисунок 3. Структурно-механические характеристики исследованных образцов сыра

Figure 3. Structural and mechanical profile

Таблица 4. Органолептические свойства полученных образцов сыра Российского

Table 4. Sensory profile of Rossiiskii cheese

Наименование показателя	Опытный образец сыра с концентратом мицеллярного казеина	Контрольный образец сыра
Внешний вид	Корка прочная и ровная, без повреждений и толстого подкоркового слоя, покрыта полимерным материалом	
Вкус и запах	Выраженный сырный с небольшим кисловато-горьковатым послевкусием	Выраженный сырный, слегка кисловатый с едва заметным сладким послевкусием
Консистенция	Малоэластичная, плотная, слегка крошечная	Умеренно эластичная и однородная по всей массе
Рисунок	Глазки неправильной угловатой формы, равномерно расположенные по поверхности среза. В контрольном образце глазков больше, чем в опытном	
Цвет	Белый и равномерный по всей массе	Кремовый и равномерный по всей массе

протекающими в сырной массе под действием заквасочной микрофлоры в процессе созревания. Это коррелирует с изменениями физико-химических показателей исследуемых образцов (табл. 3). Консистенция сыра с концентратом мицеллярного казеина на 60 сутки созревания была достаточно ломкой и характерной для перезревшего сыра (табл. 4).

Повышенное содержание казеина в сырной массе опытного образца обеспечило повышение выхода готового продукта до 15 % в сравнении с контрольным образцом, а также различия в их аминокислотном составе (табл. 5). Установлено, что суммарное содержание аминокислот к концу процесса созревания увеличилось в 2,3 раза для опытного образца и в 3 раза

Таблица 5. Содержание свободных аминокислот в образцах сыра в процессе созревания, мг/100 г

Table 5. Free amino acids during ripening, mg/100 g

Наименование аминокислоты	Опытный образец сыра с концентратом мицеллярного казеина		Контрольный образец сыра	
	1 сутки	60 суток	1 сутки	60 суток
Триптофан	0,40 ± 0,20	1,04 ± 0,20	1,40 ± 0,20	4,34 ± 0,20
Глутамин + глутаминовая кислота	12,40 ± 0,20	34,72 ± 0,20	14,00 ± 0,20	48,81 ± 0,20
Аспарагин + аспарагиновая кислота	4,80 ± 0,20	3,68 ± 0,20	5,10 ± 0,20	4,54 ± 0,20
Цистеин + цистеиновая кислота	0,46 ± 0,24	1,20 ± 0,24	1,20 ± 0,24	3,48 ± 0,24
Аргинина	0,54 ± 0,23	0,40 ± 0,23	0,60 ± 0,23	0,32 ± 0,23
Лизин	3,30 ± 0,18	8,91 ± 0,18	9,10 ± 0,18	28,21 ± 0,18
Тирозин	0,95 ± 0,23	0,34 ± 0,23	1,30 ± 0,23	0,60 ± 0,23
Фенилаланин	1,90 ± 0,23	4,94 ± 0,23	2,21 ± 0,23	5,52 ± 0,23
Гистидин	0,44 ± 0,23	1,25 ± 0,23	0,44 ± 0,23	1,64 ± 0,23
Лейцин + изолейцин	4,60 ± 0,18	12,20 ± 0,18	10,40 ± 0,18	31,25 ± 0,18
Метионин	1,54 ± 0,23	4,00 ± 0,23	2,12 ± 0,23	6,78 ± 0,23
Валин	2,20 ± 0,18	6,17 ± 0,18	7,23 ± 0,18	21,69 ± 0,18
Пролин	7,20 ± 0,18	18,20 ± 0,18	9,20 ± 0,18	42,24 ± 0,18
Треонин	1,60 ± 0,18	4,65 ± 0,18	1,61 ± 0,18	10,46 ± 0,18
Серин	2,90 ± 0,18	2,25 ± 0,18	5,74 ± 0,18	4,64 ± 0,18
Аланин	1,40 ± 0,18	3,50 ± 0,18	2,72 ± 0,18	7,06 ± 0,18
Глицин	0,80 ± 0,18	2,10 ± 0,18	1,85 ± 0,18	5,48 ± 0,18
Орнитин	–	0,13 ± 0,03	–	0,18 ± 0,03
γ-аминомасляная	–	0,17 ± 0,03	–	0,20 ± 0,03
Итого	47,43	109,85	76,22	227,44

для контрольного. По мере созревания концентрация некоторых аминокислот для опытного и контрольного образцов возрастала: глутамина и глутаминовой кислоты в 2,8 и 3,5 раза, лизина в 2,7 и 3,1 раза, лейцина и изолейцина в 2,7 и 3 раза, метионина в 2,6 и 3,2 раза, валина в 2,8 и 3 раза, пролина в 2,5 и 4,6 раза, треонина в 2,9 и 6,5 раза, глицина в 2,6 и 3 раза соответственно.

Орнитин и γ-аминомасляная кислота присутствовали только в готовом сыре. Эти аминокислоты участвуют в формировании сладкого послевкуса в готовом продукте и образуются из аргинина [27]. В процессе созревания сырной массы при $t = 11 \pm 1^\circ\text{C}$ и относительной влажности воздуха 85 % содержание аспарагиновой кислоты, серина и тирозина, придающих бульонный или невыраженный вкус, снизилось. Это обусловлено выделением и лизисом микроорганизмов, а также преобразованиями, происходящими с белками, пептидами и аминокислотами исходного сырья.

Выводы

Анализ реологических свойств нормализованной смеси с концентратом мицеллярного казеина в процессе сычужной коагуляции, скорости роста и развития заквасочной микрофлоры на различных этапах переработки позволил сделать вывод о потенциально возможном применении концентрата мицеллярного казеина с соотношением казеин:сывороточные

белки 95:5 в технологии сыров с низкой температурой второго нагревания с обязательным увеличением продолжительности активизации закваски в нормализованной смеси, использованием заквасочных культур с высокой протеолитической активностью и способностью гидролизовать горькие пептиды, внесением максимально допустимого количества сычужного фермента, сокращением с 20 до 10 мин продолжительности второго нагревания сырного зерна и его вымешиванием до готовности к формированию при этой температуре с 30 до 10 мин.

По результатам исследования физико-химических, микробиологических и реологических показателей сырного теста с концентратом мицеллярного казеина в процессе созревания установлена необходимость сокращения продолжительности созревания сырной массы с 60 до 45 суток при $t = 11 \pm 1^\circ\text{C}$ и относительной влажности воздуха 85 %. Это позволяет увеличить выход готового продукта до 15 %, организовать комплексную и рациональную переработку молока-сырья и расширить ассортимент продуктов для специализированного питания.

На основании проведенных исследований реологических характеристик сырного теста, полученного из нормализованной смеси с концентратом мицеллярного казеина, в частности его повышенной твердости относительно контрольного образца на 60 суток созревания, выдвинуто предложение с рекомендацией к применению концентрата

мицеллярного казеина в технологии твердых сыров с высокой температурой второго нагревания.

Критерии авторства

Е. И. Мельникова руководила проектом, предложила методику проведения эксперимента, организовала производственные испытания и проводила консультации в ходе исследования. Е. В. Богданова написала рукопись и корректировала ее до подачи в редакцию, несет ответственность за плагиат. Е. С. Рудниченко проводила экспериментальные исследования. М. С. Чекмарева проводила поиск литературных источников и патентный поиск по исследуемой проблеме.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Contribution

E.I. Melnikova supervised the project, designed the experiment, organized production trials, and provided consultations. E.V. Bogdanova wrote and proofread the manuscript. E.S. Rudnichenko conducted the experiment. M.S. Chekmareva is responsible for the review and patent search.

Conflict of interest

The authors declare no conflict of interest.

References/Список литературы

1. Tepel A. Chemistry and physics of milk. St. Petersburg: Professiya; 2012. 831 p. (In Russ.). [Тёпел А. Химия и физика молока. СПб.: Профессия; 2012. 831 с.].
2. Meena GS, Singh AK, Panjagari NR, Arora S. Milk protein concentrates: opportunities and challenges. Journal of Food Science and Technology. 2017;54(10):3010–3024. <https://doi.org/10.1007/s13197-017-2796-0>
3. Ryazantseva KA, Agarkova EYu, Fedotova OB. Continuous hydrolysis of milk proteins in membrane reactors of various configurations. Foods and Raw Materials. 2021;9(2):271–281. <https://doi.org/10.21603/2308-4057-2021-2-271-281>
4. Amelia I, Barbano DM. Production of an 18% protein liquid micellar casein concentrate with a long refrigerated shelf life. Journal of Dairy Science. 2013;96(5):3340–3349. <https://doi.org/10.3168/jds.2012-6033>
5. Hammam ARA, Martínez-Monteagudo SI, Metzger LE. Progress in micellar casein concentrate: Production and applications. Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety. 2021;20(5):4426–4449. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12795>
6. Hammam ARA, Beckman SL, Metzger LE. Production and storage stability of concentrated micellar casein. Journal of Dairy Science. 2022;105(2):1084–1098. <https://doi.org/10.3168/jds.2021-21200>
7. Melnikova EI, Stanislavskaya EB, Bogdanova EV, Shabalova ED. Micellar casein production and application in dairy protein industry. Food Processing: Techniques and Technology. 2022;52(3):592–601. (In Russ.). <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2022-3-2389>
8. Sauer A, Moraru CI. Heat stability of micellar casein concentrates as affected by temperature and pH. Journal of Dairy Science. 2012;95(11):6339–6350. <https://doi.org/10.3168/jds.2012-5706>
9. Hurt E, Zulewska J, Newbold M, Barbano DM. Micellar casein concentrate production with a 3X, 3-stage, uniform transmembrane pressure ceramic membrane process at 50°C. Journal of Dairy Science. 2010;93(12):5588–5600. <https://doi.org/10.3168/jds.2010-3169>
10. Beliciu CM, Moraru CI. The effect of protein concentration and heat treatment temperature on micellar casein-soy protein mixtures. Food Hydrocolloids. 2011;25(6):1448–1460. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2011.01.011>
11. de Kort E, Minor M, Snoeren T, van Hooijdonk T, van der Linden E. Effect of calcium chelators on physical changes in casein micelles in concentrated micellar casein solutions. International Dairy Journal. 2011;21(12):907–913. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2011.06.007>
12. Lu Y, McMahon DJ, Vollmer AH. Investigating cold gelation properties of recombined highly concentrated micellar casein concentrate and cream for use in cheese making. Journal of Dairy Science. 2016;99(7):5132–5143. <https://doi.org/10.3168/jds.2015-10791>
13. Lu Y, McMahon DJ, Vollmer AH. Investigating rennet coagulation properties of recombined highly concentrated micellar casein concentrate and cream for use in cheese making. Journal of Dairy Science. 2017;100(2):892–900. <https://doi.org/10.3168/jds.2016-11648>
14. Cadesky L, Walkling-Ribeiro M, Kriner KT, Karwe MV, Moraru CI. Structural changes induced by high-pressure processing in micellar casein and milk protein concentrates. Journal of Dairy Science. 2017;100(9):7055–7070. <https://doi.org/10.3168/jds.2016-12072>
15. Hammam ARA, Metzger LE. Manufacture of culture-based acid curd using micellar casein concentrate. Journal of Dairy Science. 2020;103(S1):130–131.
16. Prikhodko DV, Krasnoshtanova AA. Using casein and gluten protein fractions to obtain functional ingredients. Foods and Raw Materials. 2023;11(2):223–231. <https://doi.org/10.21603/2308-4057-2023-2-569>

17. Hammam ARA, Beckman SL, Sunkesula V, Metzger LE. Highly concentrated micellar casein: Impact of its storage stability on the functional characteristics of process cheese products. *LWT*. 2022;161. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2022.113384>
18. Hammam ARA, Kapoor R, Salunke P, Metzger LE. Compositional and functional characteristics of Feta-type cheese made from micellar casein concentrate. *Foods*. 2022;11(1). <https://doi.org/10.3390/foods11010024>
19. Hammam ARA, Kapoor R, Metzger LE. Manufacture of process cheese products without emulsifying salts using acid curd and micellar casein concentrate. *Journal of Dairy Science*. 2022;106(1):117–131. <https://doi.org/10.3168/jds.2022-22379>
20. Salunke P, Metzger LE. Functional characteristics of process cheese product as affected by milk protein concentrate and micellar casein concentrate at different usage levels. *International Dairy Journal*. 2022;128. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2022.105324>
21. Salunke P, Marella C, Amamcharla JK, Muthukumarappan K, Metzger LE. Use of micellar casein concentrate and milk protein concentrate treated with transglutaminase in imitation cheese products – Unmelted texture. *Journal of Dairy Science*. 2022;105(10):7891–7903. <https://doi.org/10.3168/jds.2022-21852>
22. Marchesseau S, Gastaldi E, Lagaude A, Cuq J-L. Influence of pH on protein interactions and microstructure of process cheese. *Journal of Dairy Science*. 1997;80(8):1483–1489. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(97\)76076-4](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(97)76076-4)
23. Li B, Waldron DS, Tobin JT, Subhir S, Kelly AL, McSweeney PLH. Evaluation of production of Cheddar cheese from micellar casein concentrate. *International Dairy Journal*. 2020;107. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2020.104711>
24. Dilanyan ZKh. Cheesemaking, 3d edition. Moscow: Legkaya i pishchevaya promyshlennost'; 1984. 280 p. (In Russ.). [Диланян З. Х. Сыроделие, 3-е изд. М.: Легкая и пищевая промышленность, 1984. 280 с.].
25. Kuznetsov VV, Shiler GG. Dairy production guidelines. Technology and formulations. Vol. 3. Cheese. St. Petersburg: GIORД; 2003. 512 p. (In Russ.). [Кузнецов В. В., Шилер Г. Г. Справочник технолога молочного производства. Технология и рецептуры. Том 3. Сыры. СПб: ГИОРД, 2003. 512 с.].
26. Leroy F, de Vuyst L. Lactic acid bacteria as functional starter cultures for the food fermentation industry. *Trends in Food Science and Technology*. 2004;15(2):67–78. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2003.09.004>
27. Umansky MS, Liskova EA. Influence of milk baking modes, clotting enzyme concentration and bacterial ferment doze on clotting rate. *Modern High Technologies*. 2005;10(9):91–92. (In Russ.). [Уманский М. С., Лискова Е. А. Влияние режимов топления молока, концентрации молокосвертывающего энзима и дозы бактериальной закваски на скорость образования сгустка // Современные наукоемкие технологии. 2005. № 10. С. 91–92.]. <https://www.elibrary.ru/JSEQHF>
28. Illarionova EE, Kruchinin AG, Turovskaya SN, Bigaeva AV. Methods of assessing milk proteins coagulation as a part of the forecasting system of technological properties. *Food Processing: Techniques and Technology*. 2021;51(3):503–519. (In Russ.). <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2021-3-503-519>
29. Lepilkina OV, Lepilkina ON, Loginova IV. Eyes in cheese: Reasons for formation and methods of assessment. *Food Systems*. 2021;4(3):180–189. (In Russ.). <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2021-4-3-180-189>
30. Ivanova I, Ivanova M, Ivanov G, Bilgucu E. Effect of somatic cells count in cow milk on the formation of biogenic amines in cheese. *Journal of Food Science and Technology*. 2021;58(9):3409–3416. <https://doi.org/10.1007/s13197-020-04935-z>
31. Ivanova M, Markova A, Ivanov G. Physicochemical, microbiological and sensory characteristics of cow's milk Kashkaval cheese ripened at different temperatures. *Food Research*. 2021;5(2):308–313.

<https://doi.org/10.21603/2074-9414-2023-4-2466>
<https://elibrary.ru/KEAMSW>

Оригинальная статья
<https://fptt.ru>

Активность сывороточной щелочной фосфатазы у самцов лосей *Alces alces* (Linnaeus 1758) различных возрастных групп



М. А. Перевозчикова*, И. А. Домский, Ю. А. Березина,
А. А. Сергеев, А. В. Экономов

Всероссийский научно-исследовательский институт охотничьего хозяйства и звероводства
имени профессора Б. М. Житкова, Киров, Россия

Поступила в редакцию: 16.02.2023
Принята после рецензирования: 09.03.2023
Принята к публикации: 04.04.2023

*М. А. Перевозчикова: mperevozchikova@mail.ru,
<https://orcid.org/0000-0003-3638-3712>
И. А. Домский: <https://orcid.org/0000-0003-1633-1341>
Ю. А. Березина: <https://orcid.org/0000-0001-5082-716X>
А. А. Сергеев: <https://orcid.org/0000-0002-9461-5131>
А. В. Экономов: <https://orcid.org/0000-0002-0242-8954>

© М. А. Перевозчикова, И. А. Домский,
Ю. А. Березина, А. А. Сергеев, А. В. Экономов, 2023



Аннотация.

Лось является перспективным объектом охотничьего хозяйства и дичеразведения. Для оценки состояния здоровья животных при проведении охотхозяйственных и зооветеринарных мероприятий и выявления патологий неинфекционной, инфекционной и инвазионной природы, а также адаптивных возможностей организма и его устойчивости могут быть использованы показатели периферической крови. Одним из наиболее часто используемых клинических биохимических тестов является определение активности щелочной фосфатазы в сыворотке крови.

В качестве материала для исследования использовали кровь самцов лосей ($n = 75$) четырех возрастных групп: телята в возрасте 6–7 месяцев, молодняк 1,5 года, взрослые особи 2,5–7,5 лет и старше 8,5 лет. Отбор проб биоматериала производился в период с октября по декабрь на территории Кировской области в подзоне южной тайги. Взятие проб крови производили путем перерезания яремной вены (*Venae jugularis*) сразу после отстрела животного в процессе охоты. Исследования сыворотки крови проводили на полуавтоматическом биохимическом анализаторе Biochem SA High Technology (США).

Представлены результаты исследования активности щелочной фосфатазы у самцов европейского лоса в разные периоды онтогенеза. В первые месяцы жизни отмечена высокая активность фермента – $222,16 \pm 31,14$ Ед/л, что характеризует интенсивный гидролиз фосфорных эфиров органических соединений, включая обмен макроэргов на фоне бурного остеогенеза. К возрасту 1,5 лет снижается востребованность в фосфорорганических соединениях в процессах обмена веществ, а также уменьшается роль фермента в поддержании гомеостаза: показатель активности составил $146,48 \pm 44,09$ Ед/л. У взрослых особей 2,5–7,5 лет активность щелочной фосфатазы снижается до $69,88 \pm 11,31$ Ед/л, у животных старше 8,5 лет – до $47,34 \pm 4,74$ Ед/л. Выявили достоверные различия активности щелочной фосфатазы между всеми группами животных. Установили достоверное влияние возраста на активность фермента. Выявили зависимость активности щелочной фосфатазы от массы тела.

Полученные результаты по динамике активности щелочной фосфатазы в онтогенезе отражают гомеостатические изменения, происходящие в организме лосей. Показатели активности щелочной фосфатазы возможно использовать в качестве маркера продуктивности и дополнительного критерия к сложившимся в зоотехнической практике методам и приемам селекции.

Ключевые слова. *Alces alces*, лось, самцы, возраст, щелочная фосфатаза, сыворотка крови

Финансирование. Работа выполнена на базе Всероссийского научно-исследовательского института охотничьего хозяйства и звероводства имени профессора Б. М. Житкова (ВНИИОЗ) в рамках выполнения Государственного задания по Программе ФНИ государственных академий наук FSZZ-2019-0001 (AAAA-A19-119020190132-5).

Для цитирования: Активность сывороточной щелочной фосфатазы у самцов лосей *Alces alces* (Linnaeus 1758) различных возрастных групп / М. А. Перевозчикова [и др.] // Техника и технология пищевых производств. 2023. Т. 53. № 4. С. 652–661. <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2023-4-2466>

Serum Alkaline Phosphatase in Free-Ranging Male Moose *Alces alces* (Linnaeus 1758) of Different Age Groups



Maria A. Perevozchikova*^{ID}, Igor A. Domskey^{ID},
Yulia A. Berezina^{ID}, Alexey A. Sergeyev^{ID}, Alexandr V. Economov^{ID}

Professor Zhitkov Russian Research Institute of Game Management and Fur Farming, Kirov, Russia

Received: 16.02.2023
Revised: 09.03.2023
Accepted: 04.04.2023

*Maria A. Perevozchikova: mperevozchikova@mail.ru,
<https://orcid.org/0000-0003-3638-3712>
Igor A. Domskey: <https://orcid.org/0000-0003-1633-1341>
Yulia A. Berezina: <https://orcid.org/0000-0001-5082-716X>
Alexey A. Sergeyev: <https://orcid.org/0000-0002-9461-5131>
Alexandr V. Economov: <https://orcid.org/0000-0002-0242-8954>

© M.A. Perevozchikova, I.A. Domskey, Yu.A. Berezina,
A.A. Sergeyev, A.V. Economov, 2023



Abstract.

The moose has good prospects for hunting and game breeding. Peripheral blood indicators can provide information about their health status and adaptive capabilities, as well as non-infectious, infectious, and invasive pathologies. Serum alkaline phosphatase activity is one of the most common clinical biochemical tests in this respect.

The study involved blood samples obtained from male moose ($n = 75$) of four age groups: calves aged 6–7 months, young animals of 18 months old, adults of 2.5–7.5 years old, and adults aged ≥ 8.5 years. The biomaterial sampling was carried out in October – December in the southern taiga subzone, Kirov Region. The blood samples were obtained by cutting the jugular vein (*Venae jugularis*) immediately after the animal was shot during legal hunting. The blood serum tests involved a semi-automatic biochemical analyzer (Biochem SA High Technology, USA).

The alkaline phosphatase activity in male European moose during different periods of ontogenesis demonstrated the following pattern. In the first months of life, the enzyme activity was as high as 222.16 ± 31.14 U/L. This process was typical of intense hydrolysis of organic phosphorus esters, including the exchange of macroergs caused by rapid osteogenesis. At 18 months, the demand for organophosphorus compounds in metabolic processes decreased (46.48 ± 44.09 U/L), as did the role of the enzyme in maintaining homeostasis. In adults of 2.5–7.5 years old, alkaline phosphatase activity dropped to 69.88 ± 11.31 U/L. In 8.5-year-old males, it was as low as 47.34 ± 4.74 U/L. All age groups demonstrated significant differences in alkaline phosphatase activity. Therefore, age had a significant effect on enzyme activity. The study also revealed a certain correlation between alkaline phosphatase activity and body weight.

The dynamics of alkaline phosphatase activity in ontogenesis reflected homeostatic changes in the moose body. Indicators of alkaline phosphatase activity can serve as an efficiency marker and an additional criterion in standard selection methods in zootechnical practice.

Keywords. *Alces alces*, moose, males, age, alkaline phosphatase, blood serum

Funding. The research was carried out on the premises of the Professor Zhitkov Russian Research Institute of Game Management and Fur Farming as part of Fundamental Research Program through 2030, state assignment No. FSZZ-2019-0001 (AAA-A19-119020190132-5).

For citation: Perevozchikova MA, Domskey IA, Berezina YuA, Sergeyev AA, Economov AV. Serum Alkaline Phosphatase in Free-Ranging Male Moose *Alces alces* (Linnaeus 1758) of Different Age Groups. Food Processing: Techniques and Technology. 2023;53(4):652–661. (In Russ.). <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2023-4-2466>

Введение

Лось (*Alces alces* (Linnaeus 1758)) является хозяйственно важным видом диких копытных, обитающих на территории Российской Федерации. Благодаря экологической пластичности и способности переживать самые суровые зимы он рассматривается как

перспективный объект фермерского охотничьего хозяйства [1–3]. В отличие от крупного рогатого скота лось не требует создания искусственных условий содержания, не конкурирует с сельскохозяйственными животными за корма и обладает высокой скоростью роста, достигающей за первое полугодие жизни 1500 %,

что превышает аналогичные показатели крупного рогатого скота в 3–4 раза [4].

Лосеводство способствует эффективному использованию аграрных неудобий, сохранению и восстановлению истощенных почв, улучшению качества природных поверхностных вод. Разведение лосей и других копытных в условиях фермерского охотничьего хозяйства может расцениваться как один из способов обеспечения продовольственной безопасности, диверсификации источников питания для местного населения, развития сельских районов, повышения рентабельности животноводства и увеличения занятости населения, что актуально в современных условиях. Вольерное разведение копытных проводится в соответствии с принципами устойчивого экологического сельского хозяйства. Развитие животных не стимулируется кормовыми добавками и высококалорийными подкормками, контакт с фармацевтическими препаратами минимален. По этим причинам мясо лося и других разводимых в вольерах копытных становится привлекательным продуктом для современного и осведомленного потребителя. Вольерное разведение лося может снизить пресс охоты на некоторые свободноживущие популяции и помочь в изучении биологии самого крупного представителя семейства оленевых.

Разведение лосей требует проведения не только охотхозяйственных, но и зооветеринарных мероприятий. Для оценки состояния здоровья и наличия патологий неинфекционной, инфекционной и инвазионной природы, а также адаптивных возможностей организма и его устойчивости могут быть использованы показатели периферической крови. Для этого в современной ветеринарной практике широко применяются биохимические исследования [5]. Одним из наиболее часто используемых клинических биохимических тестов является определение активности щелочной фосфатазы в сыворотке крови.

Щелочная фосфатаза – это металлопротеин, в состав активного центра которого входит атом цинка. Рассматривается как показатель метаболического статуса организма животных разных возрастов, зависящий от условий окружающей среды. Изоферменты щелочной фосфатазы содержатся практически во всех тканях, особенно в костной (в мембранах остеобластов растущих костей), паренхиме печени и стенках желчных протоков (откуда выделяется с желчью), проксимальных отделах извитых канальцев почек, лактирующей молочной железе, плаценте и клетках слизистой оболочки кишечника [6].

Выделяют несколько типов щелочной фосфатазы: тканенеспецифическая и три ее варианта, среди которых кишечный, плацентарный и зародышевый. Тканенеспецифическая щелочная фосфатаза представляет собой гомодимерный гликопротеин, каждый мономер которого состоит из 524 аминокислотных остатков. Тканенеспецифическая щелочная фосфатаза

экспрессируется во многих тканях организма, но наибольшая активность отмечается в костях, печени, почках и плаценте [7, 8]. Помимо этого, щелочная фосфатаза широко представлена в центральной нервной системе: в эндотелиальных клетках головного мозга, особенно в затылочной, лобной и височных долях, а также в области гиппокампа [9, 10].

Физиологическая роль щелочной фосфатазы в тканях до конца не изучена. Костный изофермент щелочной фосфатазы участвует в минерализации скелета за счет гидролиза с образованием двух неорганических фосфатов, которые затем включаются в структуру гидроксиапатита вместе с кальцием. Также в процессе гидролиза уменьшается количество пирофосфата – одного из основных ингибиторов процесса минерализации, что вносит дополнительный вклад в поддержание костной структуры [11]. В других тканях щелочная фосфатаза участвует в защите целостности клеточных мембран от воспалительных агентов, в регуляции секреции бикарбонатов и микробной флоры и ее транслокации через кишечный барьер, в поддержании pH в двенадцатиперстной кишке и во всасывании длинноцепочечных желчных кислот. Щелочная фосфатаза катализирует углеводный и липидный обмены путем резорбции углеводов и липидов в тонком отделе кишечника и активирует всасывание глюкозы в почечных нефронах. Установлено действие щелочной фосфатазы на реакции синтеза фруктозы из глюкозы [9].

Таким образом, распространенность щелочной фосфатазы в клетках различных органов и тканей свидетельствует о том, что этот фермент ответствен за фундаментальные биохимические процессы.

Щелочная фосфатаза участвует в поддержании гомеостаза, регуляции роста и адаптации организма к условиям внешней среды [12]. Активность щелочной фосфатазы варьируется при различных физиологических состояниях здорового организма (возраст от рождения до полового созревания, беременность) и при заболеваниях печени, костной ткани, желудка, кишечника и паразитовидных желез, что используется для диагностики данных заболеваний [6, 9]. При абсцессах печени и отравлении гепатотоксинами наблюдается резкое повышение щелочной фосфатазы [13]. Определение активности щелочной фосфатазы помогает в дифференциальной диагностике внутри- и внепеченочного холестаза. При внепеченочной обтурации (камни желчных протоков, новообразования) активность щелочной фосфатазы повышается в 10 раз и более, в то время как внутрипеченочная обтурация при паренхиматозном поражении (гепатите) сопровождается повышением активности щелочной фосфатазы в 2–3 раза. При внутрипеченочном холестазе сначала активность щелочной фосфатазы повышается за счет активации ее синтеза, а в дальнейшем ее увеличение, особенно в форме макрощелочной фосфатазы (комплекс фермента с

фрагментом мембраны), связано с деструкцией желчных канальцев при действии желчных кислот [13]. Уровень щелочной фосфатазы повышается при тяжелых инфекционных заболеваниях, таких как сепсис. В ряде исследований была обнаружена ассоциация между увеличением щелочной фосфатазы и С-реактивным белком – одним из основных маркеров воспалительной реакции [14, 15]. Обсуждается протективная роль щелочной фосфатазы в воспалительных реакциях [9]. По уровню содержания щелочной фосфатазы можно судить о степени тяжести течения воспалительного процесса [6]. Щелочная фосфатаза является одним из потенциальных маркеров инсульта и болезни малых сосудов [13]. Снижение активности щелочной фосфатазы может наблюдаться при хроническом гломерулонефрите, выраженной анемии и накоплении радиоактивных веществ в костях, а также на фоне лечения сульфаниламидными препаратами [13].

Установлена взаимосвязь активности щелочной фосфатазы с продуктивностью различных видов животных: крупного и мелкого рогатого скота, свиней и рыб [16–25]. Щелочную фосфатазу на ранних стадиях онтогенеза можно использовать в качестве маркера продуктивности и дополнительного критерия селекции животных. Баранчиков в месячном возрасте, которые имеют высокую активность щелочной фосфатазы, принимают как обладающих селективно выгодным метаболическим типом, а в пятимесячном возрасте, наоборот, используют в селекционном процессе как имеющих низкую активность щелочной фосфатазы. Кроме того, наличие корреляции между щелочной фосфатазой и ростом служит критерием при отборе баранчиков на скороспелость [22].

Таким образом, вариабельность активности щелочной фосфатазы становится предметом многочисленных исследований биохимического статуса крови животных, в частности лосей.

В доступной научной литературе представлены единичные сведения об особенностях активности щелочной фосфатазы у лосей [5, 26–29]. Данный показатель представлен у животных, иммобилизованных при помощи лекарственных средств, что отражается на уровне активности щелочной фосфатазы [26]. Однако не известны половые и возрастные особенности, не всегда указано физиологическое состояние организма животных и наличие заболевания, не представлены данные по массе животных.

Цель исследования – изучение динамики активности щелочной фосфатазы в процессе онтогенетического развития самцов лосей.

Объекты и методы исследования

В качестве материала для исследования использовали кровь самцов лосей ($n = 75$), в том числе 20 от телят в возрасте 6–7 месяцев, 15 – от молодняка 1,5 года, 30 – от взрослых особей 2,5–7,5 лет,

10 – от животных 8,5–12,5 лет. Биоматериал получен от животных, добытых в период сезона охоты (октябрь – декабрь) в 2006–2020 гг. Отстрел лосей производился в процессе индивидуальных охот на солонцах и с подхода, а также обеспечивал сравнительно одинаковый уровень стресса животных. Гибель животных от огнестрельного ранения происходила мгновенно или агональный период не превышал нескольких минут, что соответствует молниеносному темпу наступления смерти. Животные, получившие тяжелые ранения и добытые в результате последующего преследования, в выборку не включались. Все особи считались клинически здоровыми, поскольку на момент отбора проб признаки болезней отсутствовали.

Масса тела лосей определялась до разделки туши и варьировалась у телят в пределах 178–201,5 кг ($191,25 \pm 10,58$), у молодняка 1,5 года – 251–280,5 кг ($265,75 \pm 20,85$), у взрослых особей – 280–420,5 кг ($340,93 \pm 53,36$).

Сбор материалов для исследования осуществлялся в научно-опытном охотничьем хозяйстве ФГБНУ ВНИИОЗ им. проф. Б. М. Житкова на территории Слободского, Зуевского и Белохолуницкого районов Кировской области в подзоне южной тайги. Все животные являлись дикими и свободно передвигались в пределах хозяйства, питаясь местной растительностью.

Взятие проб крови для дальнейших лабораторных исследований производили путем перерезания яремной вены (*Venae jugularis*) сразу после отстрела животного в процессе охоты. Кровь брали в вакуумные пробирки IMPROVE по 4 мл с активатором свертывания. До отправки в лабораторию института кровь хранилась в холодильнике при температуре $+4\text{ }^{\circ}\text{C}$ около 16–24 ч. В лаборатории кровь центрифугировали в течение 20 мин при 1500 об/мин.

Исследования сыворотки крови проводили сразу после доставки в лабораторию на полуавтоматическом биохимическом анализаторе Biochem SA High Technology (США) с использованием набора реагентов «Эко-Сервис» (Россия). Анализ включал определение активности щелочной фосфатазы.

Статистический анализ проводился с использованием программного обеспечения MS Excel (Office 2019) и Statgraphics (19-X64) общепринятыми методами [30]. Для описания выборок определяли среднее значение (M), стандартное отклонение ($\pm SD$), медиану (Me), 25 и 75 % процентиля. Для сравнения показателей между группами применяли непараметрический критерий (U) Манна – Уитни. Связи между группами оценивались с помощью ранговой корреляции по Спирмену. Для оценки влияния факторов «возраст» и «масса тела» на активность щелочной фосфатазы применяли однофакторный дисперсионный анализ (ANOVA). Влияние фактора считалось достоверно значимым при $p < 0,05$.

Результаты и их обсуждение

Результаты активности щелочной фосфатазы в сыворотке крови самцов лосей различных возрастных групп приведены на рисунке 1.

Выявили сильную отрицательную корреляцию между показателями активности щелочной фосфатазы ($r = -0,60$; $p = 0,02$) у самцов лосей в возрасте 1,5 года и взрослых особей.

Различные факторы могут влиять на активность щелочной фосфатазы. Проведенный однофакторный анализ (ANOVA) позволил установить влияние физиологических факторов (возраст и масса) на активность щелочной фосфатазы. Установлено достоверное влияние возраста ($p = 0,00$, % влияния 87,49) и массы тела ($p = 0,00$, % влияния 86,53).

В связи с недостатком в научной литературе сведений по активности щелочной фосфатазы у лосей и отсутствием данных по возрастным, половым и физиологическим особенностям или наличию заболеваний и пр. провели сравнительный анализ наших результатов с другими видами животных подотряда жвачные (*Ruminantia*), по которым имеются подобные исследования.

Важнейшее значение в формировании дыхательной функции крови в онто- и филогенезе имеет развитие скелета и опорно-двигательного аппарата [31]. У новорожденных млекопитающих активен весь красный костный мозг, в котором осуществляется гемопоэз, тогда как у взрослых животных определенная его часть замещается на желтый жировой костный мозг [32]. Общая активность щелочной фосфатазы в циркулирующей крови здоровых животных складывается из активности печеночных и костных изоферментов, которая велика у растущих животных [33]. Данный фермент участвует в формировании скелета в процессе онтогенетического развития. Полученные нами данные соответствуют вышесказанному.

В результате исследований установили, что активность щелочной фосфатазы достоверно изменяется в онтогенезе. Максимальные значения отмечены у лосят в возрасте 6–7 месяцев ($222,16 \pm 31,14$ Ед/л), затем к 1,5 годам происходит достоверное снижение ($p = 0,00$) до $146,48 \pm 44,09$ Ед/л. У взрослых самцов активность щелочной фосфатазы достоверно ($p = 0,00$) снижается до $69,88 \pm 11,31$ Ед/л. У самцов старше 8 лет активность снижается до $47,34 \pm 4,74$ Ед/л ($p = 0,00$).

По данным исследователей, изучавших физиологию лося в Печоро-Илычском заповеднике (Республика Коми), новорожденные лосята растут очень быстро. Сопоставление интенсивности роста лосят и молодняка крупного рогатого скота показывает, что отношение прироста к весу в первый месяц жизни у лосят составляет 50,8, у телят – 31,3 [34, 35]. По данным А. Э. Кнорре, относительный прирост массы тела лосят в два раза выше, чем у телят [36].

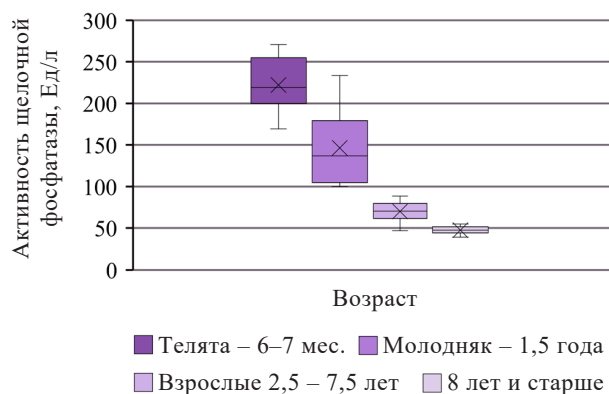


Рисунок 1. Активность щелочной фосфатазы в сыворотке крови самцов лосей различных возрастных групп

Figure 1. Age-related alkaline phosphatase activity in the blood serum of male moose

Относительная скорость роста лосят достигает своего пика в трехмесячном возрасте. Осенью при переходе на веточный корм рост лосят замедляется. Интенсивность роста за первое полугодие жизни у лосят достигает 1500 %, а у крупного рогатого скота 400–407 % [4]. Увеличение массы тела быстрее происходит у видов с более высокой концентрацией в молоке белка и макроэлементов (кальция, фосфора), необходимых для формирования скелета и мускулатуры. Среди копытных животных наиболее быстрорастущими являются лось и северный олень [37]. Высокие темпы роста и метаболизма, а также становление физиологической зрелости органов и систем лосят в летний период определяют успешность их выживания зимой, когда питание ограничено бедным белком веточным кормом, и являются доказательством адаптивной пластичности организма лося. Кроме того, быстрое развитие опорно-двигательного аппарата имеет важное значение для более эффективного функционирования дыхательной функции крови.

Результаты наших исследований согласуются с данными Я. А. Жарикова и Л. А. Каневой, демонстрирующими, что щелочная фосфатаза обеспечивает образование энергии за счет гидролиза фосфорных эфиров органических соединений, включая обмен макроэргов, и транспорта фосфатов через плазматические мембраны [22]. Постепенное возрастное снижение активности щелочной фосфатазы в сыворотке крови животных вызвано уменьшением роли фермента в поддержании энергетического гомеостаза за счет обмена фосфорорганических соединений на фоне возрастания роли аминотрансфераз.

Ю. Г. Соболева с соавторами в своей работе указали на возрастную вариабельность активности щелочной фосфатазы у крупного рогатого скота [13]. К началу полового созревания, т. е. к 6–7 месяцам,

активность щелочной фосфатазы у животных колеблется от 1,71 до 2,48 мкат/л и в 4 раза превышает таковые у нестельных коров ($p < 0,00$). У телят с клиническими признаками диспепсии активность щелочной фосфатазы, по сравнению со здоровыми в возрасте 1–10 дней, понижена на 8 %. Это указывает на незначительное понижение экскреции паренхимы и стенок желчных протоков при вовлечении печени в патологический процесс диспепсии. Однако щелочная фосфатаза больных телят почти в 4,5 раза выше, чем у коров ($p < 0,00$). Сведения по определению активности щелочной фосфатазы при патологии пищеварительной системы и печени позволяют получить объективные данные только при сравнении одновозрастных животных.

Результаты В. И. Еременко и др. по определению активности щелочной фосфатазы у телочек, полученные от лактирующих коров разного уровня про-

дуктивности, показывают, что в период от рождения до двенадцатимесячного возраста активность щелочной фосфатазы увеличивается независимо от их происхождения [18]. У телочек, полученных от высокопродуктивных коров, установлена более высокая активность щелочной фосфатазы в шести- и двенадцатимесячном возрасте, а в возрасте старше двенадцати месяцев эти различия становятся статистически достоверными ($p < 0,05$).

Результаты биохимических исследований сыворотки крови самцов лосей в сравнении с данными других авторов приведены в таблице 1.

Практически все исследования по биохимическим показателям крови лосей проведены со взрослыми животными. В работе М. К. Rostal с соавторами приведены данные по трем возрастным группам животных, включающим телят, молодняк 1–2 года и взрослых особей, но отсутствуют данные о половом

Таблица 1. Биохимические показатели молодняка и взрослых самцов лосей в сравнении с данными других авторов

Table 1. Biochemical parameters of young vs. adult male moose: comparative analysis of available publications

Вид, подвид	Пол	Активность щелочной фосфатазы, Ед/л M ± SD (min – max)				Автор
		Телята 6–7 месяцев	Молодняк 1–2 года	Взрослые 2,5–7,5 лет	Старые 8–12 лет	
<i>A. a. alces</i> (Linnaeus 1758)	♂	222,16 ± 31,14 169,2–270,8	146,48 ± 44,09 99,9–233,5	69,88 ± 11,31 46,65–88,3	47,34 ± 4,74 38,8–54,76	Наши данные, Кировская область, РФ
<i>A. a. alces</i> (Linnaeus 1758)	–	–	–	131,00 ± 12,14	–	Reshetnyak и др., Костромская область, РФ [29]
<i>A. a. alces</i> (Linnaeus 1758)	–	293 135–502	157 78–254	130 41–335	–	Rostal и др., Норвегия [5]
<i>A. a. alces</i> (Linnaeus 1758)	–	–	–	251 ± 130 (иммобилизация Медетомидин- кетамин) 407 ± 276 (иммобилизация Эторфин)	–	Агнемо, Норвегия [26]
<i>A. a. shirasi</i> (Nelson 1914)	♀	–	–	297,30 ± 125,50	–	Becker и др., Вайоминг, США [27]
<i>A. a. gigas</i> (Miller 1899)	♀ беременные	–	–	43,50 ± 19,07 25–135	–	Keech и др., Аляска, США [28]
Домашний <i>Rangifer tarandus tarandus</i> (Linnaeus 1758)	♀ беременные	–	–	173,00 ± 5,40 (таежная зона) 95,38 ± 15,39 (горно-таежная зона)	–	Корякина и др., Якутия, РФ [38]
Дикий <i>Rangifer tarandus tarandus</i> (Linnaeus, 1758)	♀	–	–	257,00 ± 20,00	–	Miller и др., Норвегия [39]
Домашние <i>Bos taurus taurus</i> (Linnaeus, 1758)	♀	–	–	55–80	–	Громыко, Краснодарский край, РФ [40]

различия [5]. Данные по активности ферментов у животных 8 лет и старше в доступной литературе отсутствуют. Данные М. К. Rostal и др., согласно которым сохранена тенденция активности сывороточной щелочной фосфатазы между взрослыми животными и молодняком, о чем свидетельствуют приведенные выше сравнительные исследования, наиболее близки к нашим результатам.

По данным V. Reshetnyak с соавторами, проводивших исследования на территории Сумароковского государственного природного заповедника Костромской области РФ, активность сывороточной щелочной фосфатазы у клинически здоровых взрослых лосей составила $131,00 \pm 12,14$ Ед/л, что выше наших результатов на 188 % [29]. У лосей с поражениями дистальных отделов конечностей различной степени тяжести активность щелочной фосфатазы отмечена на уровне $162,50 \pm 14,55$ Ед/л. В данной работе также не представлено разделение лосей по полу.

Полученные нами результаты превосходят данные по взрослым особям лосей из Норвегии на 359 %, по взрослым самкам лося из Вайоминга, США – на 465 %, по домашним северным оленям из Якутии – на 247 и 136 %, по диким северным оленям из Норвегии – на 367 % [26, 27, 38, 39]. У лосей, добытых на территории штата Аляска, США, установлена активность щелочной фосфатазы на 38 % меньше по сравнению с нашими данными [28]. Физиологическая норма содержания щелочной фосфатазы у КРС аналогична [40]. Однако данные сравнительные исследования были проведены с животными без половых различий либо с самками, некоторые из которых были беременными [5, 26–29, 38–40].

Л. П. Корякина и др. в своей работе осуществляли взятие крови у северных оленей в феврале в период глубокой стельности важенок (последние три месяца) [38]. Этот период характеризуется преобладанием количественного роста плода, глубокой дифференциацией кожного покрова, окостенением скелета плода и образованием очагов окостенения в молочных зубах. Поэтому у оленей таежной зоны отмечается более высокий уровень активности щелочной фосфатазы, связанный с отложением фосфатов кальция в костной ткани плода. Отел у оленей горно-таежной зоны проходит в более поздние сроки, поэтому активность щелочной фосфатазы в феврале менее выражена. Повышение активности сывороточной щелочной фосфатазы в период глубокой стельности объясняется ростом эмбриона, особенно процессом остеогенеза плода.

Таким образом, более высокую активность щелочной фосфатазы в работах вышеуказанных авторов, по сравнению с нашими результатами, можно связать именно с беременностью самок даже в тех случаях, когда наличие беременности не указано, а

также с присутствием инфекционных и инвазионных заболеваний или методом отбора проб крови.

А. Л. Миллер с соавторами установили, что у северных оленей при стрессе возможно повышение активности сывороточной щелочной фосфатазы и других ферментов, связанных с преследованием при охоте [39].

Несмотря на то что мы предоставили данные по активности сывороточной щелочной фосфатазы у данной популяции лосей, существуют ограничивающие факторы, которые следует учитывать при проведении сравнительного анализа. Это различия в методах взятия крови, биохимических анализаторах и среде обитания животных, а также наличие болезней или определенного физиологического состояния. Таким образом, диапазоны данного параметра должны быть интерпретированы с учетом приведенных факторов.

Выводы

Результаты проведенных исследований активности щелочной фосфатазы у лосей в онтогенезе показали, что уровень фермента колеблется в широких пределах. Наличие такой вариабельности и связи с живой массой позволяют проводить разделение животных на группы в соответствии с величиной активности фермента.

Полученные результаты по динамике активности щелочной фосфатазы в онтогенезе отражают гомеостатические изменения, происходящие в организме лосей. В первые месяцы жизни высокая активность фермента ($222,16 \pm 31,14$ Ед/л) характеризует интенсивный гидролиз фосфорных эфиров органических соединений, включая обмен макроэргов на фоне бурного остеогенеза. К возрасту 1,5 лет снижается потребность фосфорорганических соединений в процессах обмена веществ, роль фермента в поддержании гомеостаза уменьшается – $146,48 \pm 44,09$ Ед/л. У взрослых особей 2,5–7,5 лет активность щелочной фосфатазы снижается до $69,88 \pm 11,31$ Ед/л, у животных старше 8,5 лет – до $47,34 \pm 4,74$ Ед/л.

В основе современной селекции животных лежит отбор по комплексу признаков. Животные, сочетающие желательные качества, считаются наиболее ценными в племенном отношении. Использование в селекционной работе интерьерных признаков, наряду с фенотипическими, позволяет отбирать животных с высоким генетическим потенциалом. Возможно использовать показатели активности щелочной фосфатазы в качестве маркера продуктивности и дополнительного критерия к сложившимся в зоотехнической практике методам и приемам селекции.

Многие вопросы не получили обсуждения в данной статье из-за их плохой изученности. Исследования по изучению обмена веществ лосей будут продолжены и расширены, а также сопоставлены с данными по другим копытным животным.

Критерии авторства

Все авторы в равной степени принимали участие в написании рукописи и несут ответственность за достоверность информации и уникальность разработок.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Благодарности

Выражаем благодарность охотничьему коллективу Всероссийского научно-исследовательского института охотничьего хозяйства и звероводства имени профессора Б. М. Житкова за помощь в сборе биоматериала. Также благодарим Б. Е. Зарубина за помощь и содействие в сборе данных.

Contribution

All the authors contributed equally to the study and bear equal responsibility for information published in this article.

Conflict of interest

The authors declare that there is no conflict of interests regarding the publication of this article.

Acknowledgments

The authors express their gratitude to the hunters from the Professor Zhitkov Russian Research Institute of Game Management and Fur Farming for their help in collecting biological material. We also thank to Dr. Boris Zarubin for his help and assistance with data collection.

References/Список литературы

1. Veber AEh, Simakov AF, Chuv'yurova NI, Chalyshev AV. Physiology of diet and metabolism of the moose. Syktyvkar: Komi nauchnyy tsentr UrO RAN; 1992. 124 p. (In Russ.). [Физиология питания и обмен веществ лося / А. Э. Вебер [и др.]. Сыктывкар: Коми научный центр УрО РАН, 1992. 126 с.].
2. Sokolov NV. European elk and how to domesticate it. Kostroma: Kostroma Research Institute of Agriculture; 2012. 150 p. (In Russ.). [Соколов Н. В. Лось европейский и его одомашнивание. Кострома: Костромской научно-исследовательский институт сельского хозяйства, 2012. 150 с.].
3. Perevozchikova MA, Domsy IA, Sergeyev AA. Hematological parameters of free-ranging moose *Alces alces* (Linnaeus 1758) (*Ruminantia*, *Cervidae*). Foods and Raw Materials. 2024;12(1):80–90. <https://doi.org/10.21603/2308-4057-2024-1-592>
4. Likhachev AI. Elks of Western Siberia: morpho-functional and ecological studies. Novosibirsk; 1959. 187 p. (In Russ.). [Лихачев А. И. Лоси Западной Сибири: морфо-функциональные и экологические исследования. Новосибирск, 1959. 187 с.].
5. Rostal MK, Evans AL, Solberg EJ, Arnemo JM. Hematology and serum chemistry reference ranges of free-ranging moose (*Alces alces*) in Norway. Journal of Wildlife Diseases. 2012;48(3):548–559. <https://doi.org/10.7589/0090-3558-48.3.548>
6. Miller TM, Petrova MB, Miller DA, Necrasova IL. The change of biological levels of blood serum alkaline phosphatase in chronic inflammation in mucosa of stomach. Herald of Tver State University. Series: Biology and Ecology. 2011;(23): 69–73. (In Russ.). [Изменение биологических уровней щелочной фосфатазы при хроническом воспалении в слизистой оболочке желудка / Д. А. Миллер [и др.] // Вестник Тверского государственного университета. Серия: Биология и экология. 2011. № 23. С. 69–73.]. <https://elibrary.ru/OXBSGH>
7. Nikolaev AA. The structure and function of placental alkaline phosphatase (a review). Russian Journal of Human Reproduction. 2015;21(3):24–29. <https://doi.org/10.17116/repro201521324-29>
8. Silvent J, Gasse B, Mornet E, Sire J-Y. Molecular evolution of the tissue-nonspecific alkaline phosphatase allows prediction and validation of missense mutations responsible for hypophosphatasia. Journal of Biological Chemistry. 2014;289(35):24168–24179. <https://doi.org/10.1074/jbc.M114.576843>
9. Malinina EI, Mazalova MV. Alkaline phosphatase in neurological practice (review). Medical Almanac. 2020;65(4):21–28. (In Russ.). [Малинина Е. И., Мазалова М. В. Щелочная фосфатаза в практике врача-невролога (обзор) // Медицинский альманах. 2020. Т. 65. № 4. С. 21–28.]. <https://elibrary.ru/VMEXDM>
10. Négyessy L, Xiao J, Kántor O, Kovács GG, Palkovits M, Dóczi TP, et al. Layer-specific activity of tissue non-specific alkaline phosphatase in the human neocortex. Neuroscience. 2011;172:406–418. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2010.10.049>
11. Millán JL, Whyte MP. Alkaline phosphatase and hypophosphatasia. Calcified Tissue International. 2016;98:398–416. <https://doi.org/10.1007/s00223-015-0079-1>
12. Ivanova ON, Ustyuzhina TV, Skorinova TV. Calcitonin, osteocalcitonin, and parathyroid hormone in blood of patients with chronic kidney disease. International Journal of Experimental Education. 2015;9:132–135. (In Russ.). [Иванова О. Н., Устюжина Т. В., Скоринова Т. В. Изучение уровня кальцитонина, остеокальцитонина и паратгормона крови у больных с хронической почечной болезнью // Международный журнал экспериментального образования. 2015. № 9. С. 132–135.]. <https://elibrary.ru/UDORLT>

13. Soboleva YuG, Cholod VM, Baran VP, Postrash IYu. Estimation of alkaline phosphatase in cattle at the age aspect and with dyspepsia. *Agricultural Science and Education at the Current Stage of Development: Experience, Problems, and Solutions*. 2012;1:222–226. (In Russ.). [Оценка активности щелочной фосфатазы у крупного рогатого скота в возрастном аспекте и при диспепсии Ю. Г. Соболева [и др.] // *Аграрная наука и образование на современном этапе развития: опыт, проблемы и пути их решения*. 2012. Т. 1. С. 222–226.]. <https://elibrary.ru/PWMBYP>
14. Kunutsor SK, Bakker SJL, Kootstra-Ros JE, Gansevoort RT, Gregson J, Dullaart RPF. Serum alkaline phosphatase and risk of incident cardiovascular disease: Interrelationship with high sensitivity C-reactive protein. *PLoS ONE*. 2015;10(7). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0132822>
15. Webber M, Krishnan A, Thomas NG, Cheung BM. Association between serum alkaline phosphatase and C-reactive protein in the United States National Health and Nutrition Examination Survey 2005–2006. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine*. 2010;48(2):167–173. <https://doi.org/10.1515/cclm.2010.052>
16. Eryomenko VI, Karpenkova KV. Enzymatic profile of blood at the cow calves received from raznoproductivny cows. *Bulletin of the Kursk State Agricultural Academy*. 2017;(4):33–35. (In Russ.). [Еременко В. И., Карпенкова К. В. Ферментативный профиль крови у телочек, полученных от разнoproductивных коров // *Вестник Курской государственной сельскохозяйственной академии*. 2017. № 4. С. 33–35.]. <https://elibrary.ru/YPRWFB>
17. Eremenko VI, Gorozhankina GA, Skobelev VS. Dynamics of activity of transaminases, lactate dehydrogenase and alkaline phosphatase in heifers obtained from multiproductive cows. *Bulletin of the Kursk State Agricultural Academy*. 2021;(7):37–42. (In Russ.). [Еременко В. И., Горожанкина Г. А., Скобелев В. С. Динамика активности трансаминаз, лактатдегидрогеназы и щелочной фосфатазы у телочек, полученных от разнoproductивных коров // *Вестник Курской государственной сельскохозяйственной академии*. 2021. № 7. С. 37–42.]. <https://elibrary.ru/UPVVKL>
18. Eremenko VI, Rotmistrovskaya EG, Steblovskaya SYu. Alkaline phosphatase activity in blood serum of heifers and heifers of different breeds. *Scientific Notes of the Crimean Federal University: Biology and Chemistry*. 2022;8(1): 89–94. (In Russ.). [Еременко В. И., Ротмистровская Е. Г., Стебловская С. Ю. Активность щелочной фосфатазы в сыворотке крови у телочек и нетелей разных пород // *Ученые записки Крымского федерального университета имени В. И. Вернадского Биология. Химия*. 2022. Т. 8. № 1. С. 89–94.]. <https://elibrary.ru/WAXYUB>
19. Kozir VS, Xalak BI, Rudenko EV, Subdinner LI, Dolgaya MN, Goncharenko AA. Intercommunication of biochemical indexes of serum of blood with the productivity of bull-calves of different genotypes. Vitebsk the Order of “the Badge of Honor” State Academy of Veterinary Medicine. 2018;54(3):87–92. (In Russ.). [Взаимосвязь биохимических показателей сыворотки крови с продуктивностью бычков разных генотипов / В. С. Козырь [и др.] // *Ученые записки учреждения образования Витебская ордена Знак Почета государственная академия ветеринарной медицины*. 2018. Т. 54. № 3. С. 87–92.]. <https://elibrary.ru/YLIGTJ>
20. Lee AE, Derkho MA. Enzyme composition of the blood and its interrelation with the live mass at young Aberdin-Angusa breed. *Izvestia Orenburg State Agrarian University*. 2019;75(1):168–172. (In Russ.). [Ли А. Э., Дерхо М. А. Ферментный состав крови и его взаимосвязь с живой массой у молодняка абердин-ангусской породы // *Известия Оренбургского государственного аграрного университета*. 2019. Т. 75. № 1. С. 168–172.]. <https://elibrary.ru/POZRZD>
21. Dementyeva TA. Blood serum alkaline phosphatase activity in the pigs when live weight different fattening. *Vestnik NGAU*. 2014;30(1):56–59. (In Russ.). [Дементьева Т. А. Активность щелочной фосфатазы в сыворотке крови свиней при откорме до разной живой массы // *Вестник НГАУ*. 2014. Т. 30. № 1. С. 56–59.]. <https://www.elibrary.ru/RYP TUT>
22. Zharikov YaA, Kaneva LA. Activity of alkaline phosphatase in male lamb blood serum in relation to age and growth rate. *Genetics and Breeding of Animals*. 2021;(1):9–16. (In Russ.). <https://doi.org/10.31043/2410-2733-2021-1-9-16>
23. Rakhimov ShT, Radzhabov N, Sheraliyev F. Serum enzymes in predicting fertility of Gissar breed sheep. *Sheep, Goats, Wool Business*. 2015;(2):39–40. (In Russ.). [Рахимов Ш. Т., Раджабов Н., Шералиев Ф. Прогнозирование плодовитости овец гиссарской породы по сывороточным ферментам крови // *Овцы, козы, шерстяное дело*. 2015. № 2. С. 39–40.]. <https://www.elibrary.ru/UCAJTJ>
24. Sergeeva NV, Pogodaev VA. Influence of the genotype on hematological parameters of young sheep. *News of Agro-Industrial Science*. 2018;11(2–1):471–475. (In Russ.). <https://doi.org/10.25930/cmbk-fg09>
25. Maslova NI, Pronina GI, Revyakin AO. The role of biochemical investigations in fish breeding. *Izvestia Orenburg State Agrarian University*. 2010;28(4):221–224. (In Russ.). [Маслова Н. И., Пронина Г. И., Ревякин А. О. Роль биохимических исследований в селекции рыб // *Известия Оренбургского государственного аграрного университета*. 2010. Т. 28. № 4. С. 221–224.]. <https://elibrary.ru/NBKDCP>
26. Arnemo JM. Immobilization of free-ranging moose (*Alces alces*) with medetomidine-ketamine and remobilization with atipamezole. *Rangifer*. 1995;15(1):19–25. <https://doi.org/10.7557/2.15.1.1153>
27. Becker SA, Kauffman MJ, Anderson SH. Nutritional condition of adult female Shiras moose in northwest Wyoming. *Alces*. 2010;46:151–166.
28. Keech MA, Stephenson TR, Bowyer RT, van Ballenberghe V, Ver Hoef JM. Relationships between blood-serum variables and depth of rump fat in Alaskan moose. *Alces*. 1998;34(1):173–179.
29. Reshetnyak V, Stekol'nikov A, Burdeynyy V, Yelokhin M, Malakhova L. Morphobiochemical parameters of blood in traumatism in moose under domestication. *International Transaction Journal of Engineering, Management, and Applied Sciences and Technologies*. 2021;12(7):1–8. <https://doi.org/10.14456/ITJEMAST.2021.143>

30. Ivanter EhV, Korosov AV. Biology of chemical elements. Petrozavodsk: PetrGU; 2010. 104 p. (In Russ.). [Ивантер Э. В., Коросов А. В. Элементарная биометрия. Петрозаводск: ПетрГУ. 2010. 104 с.].
31. Korzhuev PA. Hemoglobin. Comparative physiology and biochemistry. Moscow: Nauka; 1964. 287 p. (In Russ.). [Коржуев П. А. Гемоглобин. Сравнительная физиология и биохимия. М.: Наука, 1964. 287 с.].
32. Korzhuev PA. Respiratory function of blood and skeleton in vertebrates. Uspekhi Sovremennoi Biologii. 1955;39(2): 163–195. (In Russ.). [Коржуев П. А. Дыхательная функция крови и скелет позвоночных животных // Успехи современной биологии. 1955. Т. 39. № 2. С. 163–195.].
33. Thrall MA, Baker DC, Campbell TW, Denicola D, Fettman MJ, Lassen ED. Veterinary hematology and clinical chemistry. Ames: Blackwell Publishing; 2006. pp. 355–375.
34. Moiseenko NA, Mochalov NI. Ecological and physiological characteristics of red blood and energy consumption in moose in early postnatal ontogenesis. In: Getsen MV, editor. Environmental factors and their effect on the fertility of wild animals in the ecosystems of the European Northeast of the USSR. Syktyvkar: Komi nauchnyy tsentr UrO AN SSSR; 1987. pp. 82. (In Russ.). [Моисеенко Н. А., Мочалов Н. И. Эколого-физиологическая характеристика красной крови и энергозатраты у лосей в раннем постнатальном онтогенезе // Влияние экологических факторов на продуктивность диких животных в экосистемах Европейского Северо-Востока СССР / отв. ред. М. В. Гецен. Сыктывкар: Коми научный центр УрО АН СССР, 1987. С. 82.].
35. Chermnykh NA, Roshchevskiy MP, Novozhilova EhA. Ungulates of the North. Gas-energy metabolism and cardiac activity. Leningrad: Nauka; 1980. 170 p. (In Russ.). [Чермных Н. А., Рошчевский М. П., Новожилова Э. А. Копытные животные в условиях Севера. Газоэнергетический обмен и сердечная деятельность. Л.: Наука, 1980. 170 с.]. <https://www.elibrary.ru/XGCDZP>
36. Knorre AEh. Results and prospects of the moose domestication. Proceedings of the Pechora-Ilych Nature Reserve. 1961;(9):5–113. (In Russ.). [Кнорре А. Э. Итоги и перспективы одомашнивания лося // Труды Печоро-Илычского заповедника. 1961. № 9. С. 5–113.].
37. Galantsev VP, Gulyaeva EL. Evolution of lactation. Leningrad: Nauka; 1987. 176 p. (In Russ.). [Галанцев В. П., Гуляева Е. Л. Эволюция лактации. Л.: Наука, 1987. 176 с.].
38. Koryakina LP, Maksimov VI, Machakhtyrov GN. Seasonal morphophysiological and enzyme profile of the blood of domestic reindeer in the taiga and mountain taiga zones of Yakutia. Agrarian Bulletin of the Urals. 2008;43(1):48–50. (In Russ.). [Корякина Л. П., Максимов В. И., Мачахтыров Г. Н. Особенности некоторых морфофизиологических показателей и ферментный профиль крови домашнего северного оленя по сезонам года таежной и горно-таежной зон Якутии // Аграрный вестник Урала. 2008. Т. 43. № 1. С. 48–50.]. <https://www.elibrary.ru/IYQAVP>
39. Miller AL, Evans AL, Os Ø, Arnemo JM. Biochemical and hematologic reference values for free-ranging, chemically immobilized wild Norwegian Reindeer (*Rangifer tarandus tarandus*) during early winter. Journal of Wildlife Diseases. 2013;49(2):221–228. <https://doi.org/10.7589/2012-04-115>
40. Gromuiko EV. Appreciation of cow's organism state by biochemical methods. The North Caucasus Ecological Herald. 2005;1(2):80–94. (In Russ.). [Громыко Е. В. Оценка состояния организма коров методами биохимии // Экологический вестник Северного Кавказа. 2005. Т. 1. № 2. С. 80–94.]. <https://www.elibrary.ru/RWTHFJ>

<https://doi.org/10.21603/2074-9414-2023-4-2464>
<https://elibrary.ru/JWGHGY>

Оригинальная статья
<https://fptt.ru>

Комплексный методический подход в определении липидов моллюсков



А. В. Бородина^{1,*}, Ю. О. Веляев^{2,**}, А. Р. Осокин²

¹ Институт биологии южных морей имени А. О. Ковалевского РАН^{ROR}, Севастополь, Россия

² Севастопольский государственный университет, Севастополь, Россия

Поступила в редакцию: 17.03.2023

Принята после рецензирования: 17.05.2023

Принята к публикации: 06.06.2023

*А. В. Бородина: borodinaav@mail.ru,

<https://orcid.org/0000-0001-8468-8372>

**Ю. О. Веляев: velyayevyo@yandex.ru,

<https://orcid.org/0000-0003-0372-2458>

А. Р. Осокин: <https://orcid.org/0009-0003-5962-1899>

© А. В. Бородина, Ю. О. Веляев, А. Р. Осокин, 2023



Аннотация.

Морские двусторчатые моллюски характеризуются повышенным содержанием полиненасыщенных жирных кислот. В Средиземном и Чёрном морях к потенциально промысловым относится моллюск *Cerastoderma glaucum*, который содержит омега-3, омега-6 и омега-9 жирные кислоты. Однако липидный состав этого вида гидробионтов слабо изучен. При определении общих липидов, их классов и состава жирных кислот стандартные методы часто необходимо адаптировать к особенностям объекта исследования и имеющейся приборной базе. Цель работы – предложить вариант комплексной методики определения липидов гидробионтов на примере двусторчатого моллюска *C. glaucum*.

Объектом исследования была сумма мягких тканей моллюска *C. glaucum*, распространенного в зоне псевдолиторали на песочно-иловом грунте Севастопольского побережья Чёрного моря. Применяли хроматографические методы установления общих липидов, разделения их на классы (фосфолипиды, моноглицериды, диглицериды, стеролы, триацилглицерины) и последующего денситометрического определения с использованием планшетного сканера и программы ТСХ менеджер 4.0.2.3D. Исследование состава жирных кислот с помощью хромато-масс-спектрометрического метода проводили для общих липидов.

В работе привели методические указания по адаптации известных методов в липидологии по определению общих липидов, их классов и жирнокислотного состава в тканях моллюсков *C. glaucum*. Описали метод определения общих липидов. Показали подготовку оборудования и реактивов для разделения общих липидов на классы методом многомерной тонкослойной хроматографии. Представили авторскую схему хроматографических ванн для осуществления ступенчатого разделения. Провели денситометрическое измерение. Привели примеры хроматограммы жирных кислот и масс-спектров. Предложили вариант проведения пробоподготовки к определению жирных кислот в общих липидах методом газовой хроматографии, который отличается минимальной потерей нативной структуры веществ и является более мягким по сравнению с широко применяемым методом дериватизации проб.

Применение предлагаемого метода для определения липидов моллюсков является экономичным и менее затратным по времени и реактивам. Метод рекомендуется использовать для небольших лабораторий, занимающихся фундаментальными исследованиями энергетики организмов или в прикладных целях для сравнительных анализов гидробионтов.

Ключевые слова. Общие липиды, классы липидов, тонкослойная хроматография, денситограмма, хроматограмма, хромато-масс-спектрометрия, моллюски

Финансирование. Работа выполнена по теме № 121041400077-1 государственного задания Института биологии южных морей имени А. О. Ковалевского РАН (ФИЦ ИнБЮМ)^{ROR} «Функциональные, метаболические и токсикологические аспекты существования гидробионтов и их популяций в биотопах с различным физико-химическим режимом». В работе использовано оборудование ЦКП «Молекулярная структура вещества» Севастопольского государственного университета (СевГУ).

Для цитирования: Бородина А. В., Веляев Ю. О., Осокин А. Р. Комплексный методический подход в определении липидов моллюсков // Техника и технология пищевых производств. 2023. Т. 53. № 4. С. 662–671. <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2023-4-2464>

Comprehensive Methodological Approach to Determining Lipids in Clams



Alexandra V. Borodina^{1,*}, Yuri O. Veliaev^{2,**},
Alexander R. Osokin²

¹ A.O. Kovalevsky Institute of Biology of the Southern Seas of RAS^{ORCID}, Sevastopol, Russia

² Sevastopol State University, Sevastopol, Russia

Received: 17.03.2023

Revised: 17.05.2023

Accepted: 06.06.2023

*Alexandra V. Borodina: borodinaav@mail.ru,

<https://orcid.org/0000-0001-8468-8372>

**Yuri O. Veliaev: velyaevyo@yandex.ru,

<https://orcid.org/0000-0003-0372-2458>

Alexander R. Osokin: <https://orcid.org/0009-0003-5962-1899>

© A.V. Borodina, Yu.O. Veliaev, A.R. Osokin, 2023



Abstract.

Marine bivalves are rich in polyunsaturated fatty acids. *Cerastoderma glaucum* is a potentially commercial sea cockle that inhabits the Mediterranean and the Black Seas. This bivalve mollusk contains omega-3, omega-6, and omega-9 fatty acids. However, its lipid composition remains understudied. When determining total lipids, their classes, and fatty acid composition, standard methods often have to be adapted to the object in hand and tools available. The research objective was to develop a complex lipid analysis method for aquatic organisms.

The study featured total soft tissues of *C. glaucum* harvested from the pseudolittoral zone on the sand and silt soil of the Sevastopol coast of the Black Sea. The chromatographic methods made it possible to identify total lipids and classify them into phospholipids, monoglycerides, diglycerides, sterols, and triacylglycerols. The subsequent densimetric determination involved a flatbed scanner and the TLC Manager 4.0.2.3D software. The fatty acid composition for total lipids was studied using the chromatography-mass spectrometric method.

The existing methods in lipidology were adapted for determining total lipids, their classes, and the fatty acid composition of total lipids in *C. glaucum*. The article introduces a detailed description of the method for determining total lipids, as well as of how to prepare equipment and reagents to classify common lipids using multidimensional thin layer chromatography. It also contains an authentic scheme of chromatographic baths for stepwise separation, densitometric measurements, and examples of fatty acid chromatograms and mass spectra. The new sample preparation method for determining fatty acids in total lipids by gas chromatography demonstrated a minimal loss in native structure and proved to be less aggressive than standard methods of sample derivatization.

The new method for lipid analysis of clam tissues appeared to be economical, less time-consuming, and reagent-intensive. It can be recommended for small laboratories engaged in bioenergetics or comparative analyzes of aquatic organisms.

Keywords. Total lipids, lipid classes, thin layer chromatography, densitogram, chromatogram, fatty acids, gas chromatography/mass spectrometry, shellfish

Funding. The work part of State Assignment to A.O. Kovalevsky Institute of Biology of the Southern Seas of RAS (IBSS)^{ORCID}, research topic No. 121041400077-1: Functional, metabolic, and toxicological aspects of hydrobionts and their populations in biotopes with different physical and chemical modes. The research was conducted on the premises of Core Facilities Centre of Molecular Matter Structure, Sevastopol State University.

For citation: Borodina AV, Veliaev YuO, Osokin AR. Comprehensive Methodological Approach to Determining Lipids in Clams. Food Processing: Techniques and Technology. 2023;53(4):662–671. (In Russ.). <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2023-4-2464>

Введение

Липиды – это обширная группа жиров и жироподобных веществ с различным химическим строением, которые способны растворяться в неполярных растворителях. Липиды содержатся в каждой живой клетке от 2 до 90 %, результатом чего является их ши-

рокий спектр функций в организме: энергетическая, структурная, запасающая, защитная, теплоизоляционная и др. Суммарные общие липиды принято разделять на классы: триацилглицерины (или жиры), фосфолипиды, гликолипиды, стероиды, воска и терпены. Информация о содержании или изменении

каждого класса в организме может дать информацию для исследователя, например, о состоянии мембран (фосфолипиды, гликолипиды и стеролы) или о степени жирового запаса (триацилглицерины). В составе жиров, поступающих через пищу в организм, есть группы насыщенных, моно- и полиненасыщенных жирных кислот, которые играют важную роль в регулировании основных процессов в организме [1–3]. С этой точки зрения следует отметить пищевую ценность группы жирных кислот типа омега (омега-3, омега-6 и омега-9), которые необходимы для нормального функционирования организма.

Морепродукты обладают высоким содержанием полиненасыщенных жирных кислот. Морские двустворчатые моллюски обладают повышенным содержанием триацилглицеринов и полиеновых жирных кислот n-3 семейства [4]. Одним из таких видов является широко распространенный и потенциально промысловый как в Средиземном, так и в Чёрном морях двустворчатый моллюск *Cerastoderma glaucum* [5–7]. Его липидный состав все еще слабо изучен, но содержит омега-3, омега-6 и омега-9 жирные кислоты [8].

При изучении липидов исследователи сталкиваются с выбором методик для определения общих липидов, их классов и состава жирных кислот. С каждым годом увеличивается количество новых открытий и усовершенствований не только в области цифровых технологий, обработок и программного обеспечения к существующим методам и приборам, но и модернизируются процессы пробоподготовок. Однако за основу выделения общих липидов берется метод Фолча [9]. Это приводит к тому, что исследователи адаптируют этот метод под свой объект исследования, лабораторные условия и т. п., а для начинающих ученых есть широкий выбор с чего начинать. Похожая ситуация наблюдается в разнообразных методах разделения общих липидов с помощью методов многомерной тонкослойной хроматографии (одномерные и многомерные системы разделения) с использованием различных растворителей для разделения общих липидов на классы: фосфолипиды, моноглицериды, диглицериды, стерины, свободные жирные кислоты и триацилглицерины [10–13]. Однако чаще используют одномерный метод разделения. Например, в системе гексан – диэтиловый эфир – ледяная уксусная кислота в разных соотношениях [4]. В литературе можно найти описание многомерного способа разделения общих липидов на классы с помощью тонкослойной хроматографии, который имеет достоинства и недостатки [11]. Количественное определение фракций липидов осуществляется с помощью гидроксаматного метода [4]. Однако создаются не только новые денситометрические приборы, но и программные продукты, которые

определяют концентрацию фракции многомерной тонкослойной хроматографии (% от общих липидов) денситометрическим методом с помощью оцифровывания пятна на многомерном тонкослойном хроматографе. Такие программы успешно зарекомендовали себя в ряде химических и медицинских исследований [14–16].

После установления соотношения различных классов липидов или выделения конкретно необходимой группы липидов можно использовать более детальный метод определения качественного состава липидов, а именно хромато-масс-спектрометрию. Достоинство данного метода заключается в высокой чувствительности и специфичности. Чаще всего метод хромато-масс-спектрометрии используется для установления количественного и качественного состава жирных кислот, входящих в состав почти всех классов общих липидов. Хромато-масс-спектрометрию можно использовать для установления состава жирных кислот как отдельного класса липидов, так и общих липидов. Для проведения таких исследований необходимо проводить пробоподготовку, которая позволяет перевести содержащиеся в пробе определяемые объекты в летучую форму. В нашем случае это метиловые эфиры жирных кислот. Процесс метилирования должен сопровождаться меньшими потерями нативной структуры изучаемых веществ и должен быть мягким и неагрессивным, но в то же время максимально продуктивным, позволяющим получить целевые аналитические формы изучаемых объектов. В литературе описываются комплексные методы с использованием газовой хроматографии, масс-спектропии и ВЭЖХ.

Существует множество вариантов, основанных на базовых методах по определению общих липидов, разделению методом многомерной тонкослойной хроматографии и идентификации хромато-масс-спектрометрическим методом. В большинстве работ среди достоинств описывается более качественное разделение, упрощение способа проявления фракций липидов, сокращение затраченного времени и реактивов и т. п. Обновление программного обеспечения и расширение технических возможностей и оборудования лабораторий требуют обновления и приспособления к новому в рамках своих лабораторий.

Цель работы – предложить комплексный подход, в основе которого лежат современные, более упрощенные, экономические и по времени менее затратные процедуры по проведению полного анализа липидов с определением общих липидов, разделением их на классы методом многомерной тонкослойной хроматографии, идентификацией жирных кислот методом газовой хроматографии и масс-спектропии на примере анализа липидов одного из видов двустворчатого моллюска – *Cerastoderma glaucum*.

Объекты и методы исследования

В качестве объекта для комплексного исследования липидов были выбраны двустворчатые моллюски *Cerastoderma glaucum*, широко распространенные в зоне псевдолиторали на песочно-иловом грунте Севастопольского побережья Чёрного моря. Исследовали сумму мягких тканей всего моллюска.

Для определения общих липидов и последующего их разделения методом многомерной тонкослойной хроматографии на классы использовали следующие реактивы и оборудование: хлороформ (хч), метанол (хч), гексан (хч), диэтиловый эфир, этанол (хч), 10 % спиртовой раствор фосфорно-молибденовой кислоты, дистиллированная вода, фильтровальная бумага, ножницы, весы лабораторные, мерные пробирки со шлифом, сушильный шкаф (70 и 100 °С), стеклянные бюксы, стаканчики (на 50 и 300 мл), мерные цилиндры (на 25 мл), воронки, дозаторы 1–5 мл, эксикатор, пластинки многомерного тонкослойного хроматографа, хроматографические капилляры или шприц для нанесения пробы на многомерный тонкослойный хроматограф, камеры для хроматографии, пинцеты (пластиковый и обычный), стандарты для классов липидов, планшетный сканер, программа для денсиметрического определения липидов.

При проведении хромато-масс-спектрометрического анализа на содержание жирных кислот для пробоподготовки использовали следующие реактивы и оборудование: диметилсульфоксид (ТУ 6-09-3818-89), 25 % метанольный раствор тетраметиламмония гидроксида (CAS: 75-59-2), йодметан (CAS: 74-88-4), гексан (ТУ 2631-158-44493179-13), лабораторный шейкер ПЭ-6300, центрифуга-вортекс Микроспин FV-2400.

Анализ проводили на аппаратно-программном комплексе для медицинских исследований на базе хроматографа Хроматэк-Кристалл 5000, исполнение 2 (ТУ 9443-004-12908609-99) с масс-спектрометрическим детектором 214.2.840.068, модель 2.840.083-10. Разделение проводили на капиллярной колонке HP-5MS UI (Agilent, Cat. № 19091S-433UI) с неподвижной фазой 5 %-фенил-95 %-метилполисиликсан. Длина колонки – 30 м, внутренний диаметр – 0,25 мм, толщина неподвижной фазы – 0,25 мкм. В качестве газа-носителя применялся гелий (ТУ 0271-001-45905715-2016) с постоянным расходом 1 мл/мин. Температурный режим колонки – градиент с начальной температурой 80 °С, изотермой 2,0 мин и нагревом 5 °С/мин до 280 °С. На испарителе деление потока соответствовало 20:1, температура 280 °С, а объем вводимой пробы был 1 мкл. Анализ проводился с использованием масс-спектрометрического детектора с электронной ионизацией (70 эВ), температурой ионного источника 230 °С и переходной линии 280 °С. Спектр регистрировали в диапазоне масс от 30 до 650 m/z.

Для обработки полученной хромато-масс-спектрометрической информации использовалось про-

граммное обеспечение Хроматэк Аналитик 3.1 (сборка 3.1.2211.3), NIST MS Search v.2.66.121.82 и библиотека масс-спектров NIST 2020 с базой данных от 2 июня 2020 года.

Результаты и их обсуждение

Определение общих липидов. Основу определения общих липидов моллюсков составляет метод Фолча с адаптациями к их тканям [9, 17]. Основой метода является экстракция липидов и субклеточных образований хлороформ-метанольной смесью (2:1) (реактив Фолча), отмывание экстракта от водорастворимых примесей, высушивание и определение концентрации липидов весовым методом по сухому остатку. После препарирования тканей моллюска их промокали фильтровальной бумагой, взвешивали на весах и растирали в фарфоровой ступке пестиком с постепенным добавлением хлороформ-метанольной смеси до получения гомогената. Полученную суспензию переносили в мерную пробирку на 10–15 мл со шлифом и доводили до полного объема реактивом Фолча из расчета 1:20 (масса ткани: объем реактива Фолча). Через 10–15 мин смесь профильтровывали через бумажный фильтр. Полученный липидный экстракт очищали от нелипидных водорастворимых примесей: в небольшой стаканчик объемом около 50 мл наливали дистиллированную воду и дозатором переносили липидную фракцию из пробирки, выпуская ее по стенке на самое дно стаканчика. Затем стеклянный сосуд ставили в еще больший стакан объемом 0,3–0,5 л, наполненный до метки дистиллированной водой. Систему оставляли на ночь в вытяжном шкафу при комнатной температуре, чтобы процедура по извлечению липидов укладывалась в сутки. После разделения в сосуде наблюдали прозрачно-желтоватую липидную фракцию, белую, тонкую и более плотную прослойку и водно-метанольную часть, которую затем удаляли. Белую часть растворяли в метаноле, добавляя несколько капель. После растворения липидный экстракт количественно переносили в предварительно взвешенный бюкс, упаривали или высушивали при температуре 60–70 °С до суха. После остывания определяли концентрацию липидов весовым методом, 1 г липидов на 100 г ткани.

Перед разделением общих липидов методом многомерной тонкослойной хроматографии проводили ряд подготовительных процедур. Хлороформ был перегнан и стабилизирован 1 % метанолом. 10 % спиртовой раствор фосфорно-молибденовой кислоты (хч) готовили с учетом плотности спирта с использованием обезвоженного перегнанного этанола. Возможна замена его на метанол или изопропанол. Например, при использовании обезвоженного перегнанного этилового спирта с учетом его плотности (0,82 г/см³) на 0,5 л раствора потребуется 41 г фосфорно-молибденовой кислоты (хч). Для полного растворения спиртовую смесь подогревали на водяной

бане. После растворения фильтровали с получением раствора соломенно-желтого цвета, который хранили в холодильнике при температуре 0–5 °С.

Определение классов липидов методом многомерной тонкослойной хроматографии. После получения сухого остатка общих липидов проводили их разделение на классы (было описано для мидий): фосфолипиды, моноглицериды, диглицериды, стерины, свободные жирные кислоты и триацилглицерины [11]. Сущность метода использования градиента полярности растворителя с помощью принципа «камера в камере» для разделения липидов на классы была изложена ранее [11]. Для анализа использовали пластинки Sorbfil Plates ПТСХ-АФ-А (Краснодар, Россия), предварительно промытые этилацетатом для удаления возможных органических соединений. После очистки пластинки обрабатывали спиртовым раствором фосфорно-молибденовой кислоты, сушили под струей воздуха и хранили в эксикаторе до использования до 3 суток [11]. В качестве хроматографических камер использовали 3 стеклянных сосуда (рис. 1).

Стеклянные камеры состояли из 3-х сосудов, входящих один в другой, как показано на рисунке 1. Соотношение 2-го сосуда к 1-му – 2:3, на дне 2-го располагается маленькая чашка Петри.

Первую камеру заполняли гексаном, вторую – смесью гексан:диэтиловый эфир (9:1), третью – маленькой чашкой Петри с 2 мл хлороформа. Первую и вторую камеру изнутри покрывали фильтровальной бумагой для создания насыщенных паров. Размер пластинки зависит от высоты и ширины камер, она должна быть выше второй камеры примерно на 1/4. Такое расположение пластинки с нанесенной пробой позволяет постепенно поднимающемуся хлороформу испаряться с одновременной сорбцией менее полярной системы гексан:эфир (9:1). За пределами 2-ой камеры происходит постепенная замена этой системы неполярным гексаном. Таким образом, в камерах создается градиент полярности растворителей, что улучшает качество разделения.

Заполнив первые две камеры и закрыв их, приступили к нанесению пробы. На пластинке Sorbfil Plates, подобранной по размеру камер, отступая от нижнего края 10 мм, нанесли микрошприцем/капилляром пробу 1–5 мг липидов в хлороформе, рядом нанесли стандарты. В качестве стандарта на многомерном тонкослойном хроматографе для триацилглицеринов использовали стандартные образцы ГСО 9437-2009 (жиры), для фосфолипидов – лецитин (BioChemica). Установив первую камеру по уровню в вытяжном шкафу, после объединения всех камер их закрывали притертой крышкой. При подъеме растворителя до конца пластины ее вынимали и сушили в потоке воздуха до видимого испарения растворителя. Затем повторно ставили в ту же систему камер. После повторного поднятия растворителей полное разделение можно считать закон-

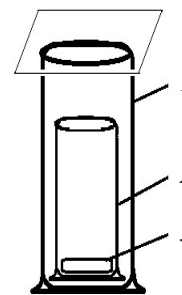


Рисунок 1. Схема камер для разделения методом многомерной тонкослойной хроматографии: 1 – первая камера; 2 – вторая камера; 3 – маленькая чашка Петри

Figure 1. Chambers for multidimensional thin layer chromatography: 1 – chamber 1; 2 – chamber 2; 3 – small Petri dish

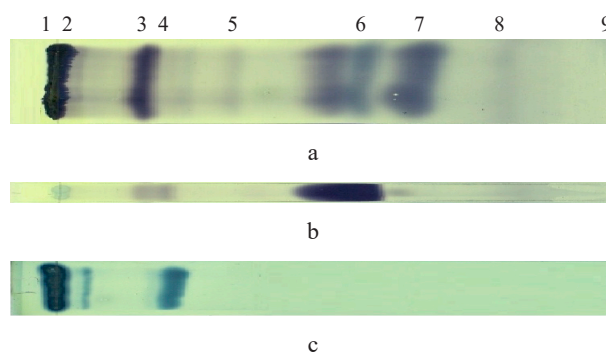


Рисунок 2. а – хроматограмма классов липидов моллюсков *Cerastoderma glaucum*, % общих липидов; б – стандарт для триацилглицеринов; с – стандарт для фосфолипидов

Figure 2. а – chromatogram of lipid classes of *Cerastoderma glaucum*, % total lipids; б – standard for triacylglycerols; с – standard for phospholipids

ченным. Разделенные на фракции липиды легко обр-уживаются при 3–5 мин нагреве пластинки в сушильном шкафу при температуре 100 °С. Время и температура должны быть строго фиксированы, т. к. от этого зависит воспроизводимость результатов. Порядок распределения липидных фракций по классам на многомерном тонкослойном хроматографе снизу вверх выглядит так: фосфолипиды, диглицериды, стерины, свободные жирные кислоты, триацилглицерины (рис. 2).

Количественная обработка результатов проводилась денситометрически. С помощью сканера HP Scanjet 200 сканировали полученное изображение фракций на многомерном тонкослойном хроматографе. После обработки файлов их сохраняли с расширением jpg (или bmp) и использовали для расчетов концентраций в программе ТСХ менеджер 4.0.2.3D (разработка И. Н. Плахотный, www.garryuc.chat.ru). Описание и подход в работе данной программы

опубликованы [15, 16]. После обработки многомерной тонкослойной хроматографией программа ТСХ менеджер 4.0.2.3D выводит отчет в формате pdf и doc, фрагмент которого показан на рисунке 3. Количественное определение липидных фракций фосфолипидов, дилицеридов, стеринов, свободных жирных кислот и триацилглицеринов (% от общих липидов) соответствует площади пиков на денситограмме (рис. 3).

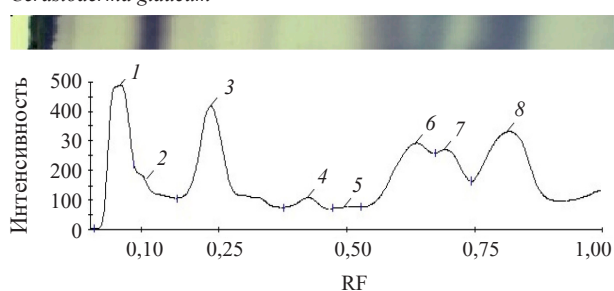
Статистическую обработку полученных результатов выполняли с применением программы Grapher 7. К недостаткам данного метода разделения общих липидов на классы можно отнести расположение на старте фосфолипидов вместе с другими такими же

по полярности примесями. Это снижает точность определения класса фосфолипидов.

Определение состава жирных кислот в общих липидах методом хромато-масс-спектрометрии. Жирные кислоты в образце липидной фракции необходимо предварительно дериватизировать, чтобы сделать возможным детектирование эфирных форм газохроматографическим методом [18]. Известно много способов дериватизации объектов, содержащих жирнокислотные фракции, которые необходимо перевести в сложноэфирные соединения, обладающие повышенной по отношению к исходным веществам летучестью и пониженной температурой кипения [19–28].

Обработка дериватизирующими агентами должна проходить в мягких условиях, чтобы избежать разрушения кратных связей в дериватизируемых молекулах, но при этом должна быть быстрой и эффективной. Так как для получения изучаемого образца использовали живой объект, представляющий сложную матрицу, был выбран метод дериватизации, применяющийся для аналогичных объектов [19, 21, 22]. Для этого сконцентрированный липидный экстракт растворяли в смеси диметилсульфоксида и 25 % метанольного раствора тетраметиламмония гидроксида как 9:1 с соотношением Ж:Т к исходному концентрату жиров 200:1. Полученную суспензию выдерживали при постоянном перемешивании 2 мин и добавляли йодметан в количестве, равном семикратному недостатку по отношению к смеси диметилсульфоксида и гидроксида тетраметиламмония. Полученную взвесь выдерживали 20 мин при комнатной температуре для достижения полноты реакции дериватизации. К дериватизированной смеси добавляли пятикратный избыток гексана и перемешивали 5 мин на горизонтальном шейкере. Затем смесь центрифугировали 5 мин со скоростью 3000 об/мин. Гексановый экстракт отделяли и закачивали в хроматограф. Полученная хроматограмма представлена на рисунке 4.

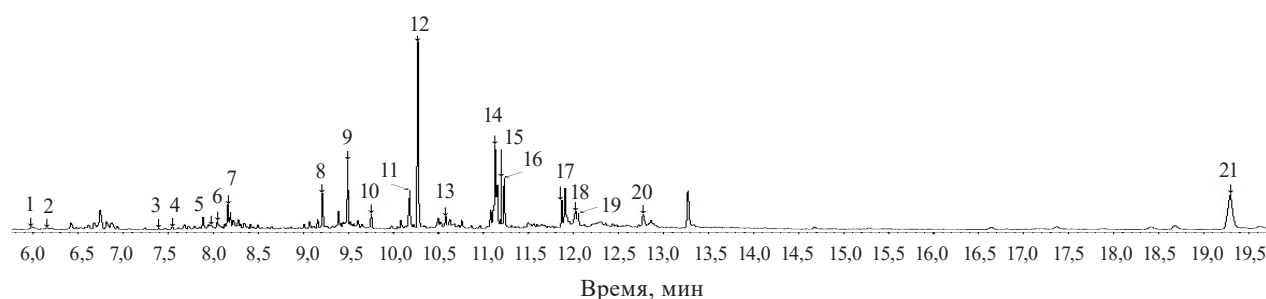
Cerastoderma glaucum



№ пика	Rf	Высота	Площадь	Площадь, %	^ = ^	Rs
1	0,06	482	19571	18,19	1-2	0,9128944
2	0,13	109	9092	8,45	2-3	0,9056544
3	0,23	392	27242	25,32	3-4	1,560402
4	0,42	28	3514	3,27	4-5	1,251999
5	0,49	24	644	0,60	5-6	2,933825
6	0,64	225	16928	15,73	6-7	0,9452748
7	0,69	196	9836	9,14	7-8	1,256295
8	0,81	245	20755	19,29		

Рисунок 3. Денситограмма многомерной тонкослойной хроматографии липидов моллюска *Cerastoderma glaucum*

Figure 3. Multidimensional thin layer chromatography of lipids in *Cerastoderma glaucum*: densitogram



1 – пеларгоновая кислота; 2 – адипиновая кислота; 3 – ундециловая кислота; 4 – субериановая кислота; 5 – терефталевая кислота; 6 – лауриновая кислота; 7 – азелаиновая кислота; 8 – миристиновая кислота; 9 – 4,8,12-триметил-тридекановая кислота; 10 – пентадекановая кислота; 11 – пальмитолеиновая кислота; 12 – пальмитиновая кислота; 13 – маргариновая кислота; 14 – 8-октадеценановая кислота; 15 – олеиновая кислота; 16 – стеариновая кислота; 17 – арахидоновая кислота; 18 – гадолеиновая кислота; 19 – гондоевая кислота; 20 – докозагексановая кислота; 21 – холестерин

Рисунок 4. Хроматограмма жирных кислот моллюска *Cerastoderma glaucum*

Figure 4. Fatty acid chromatogram of *Cerastoderma glaucum*

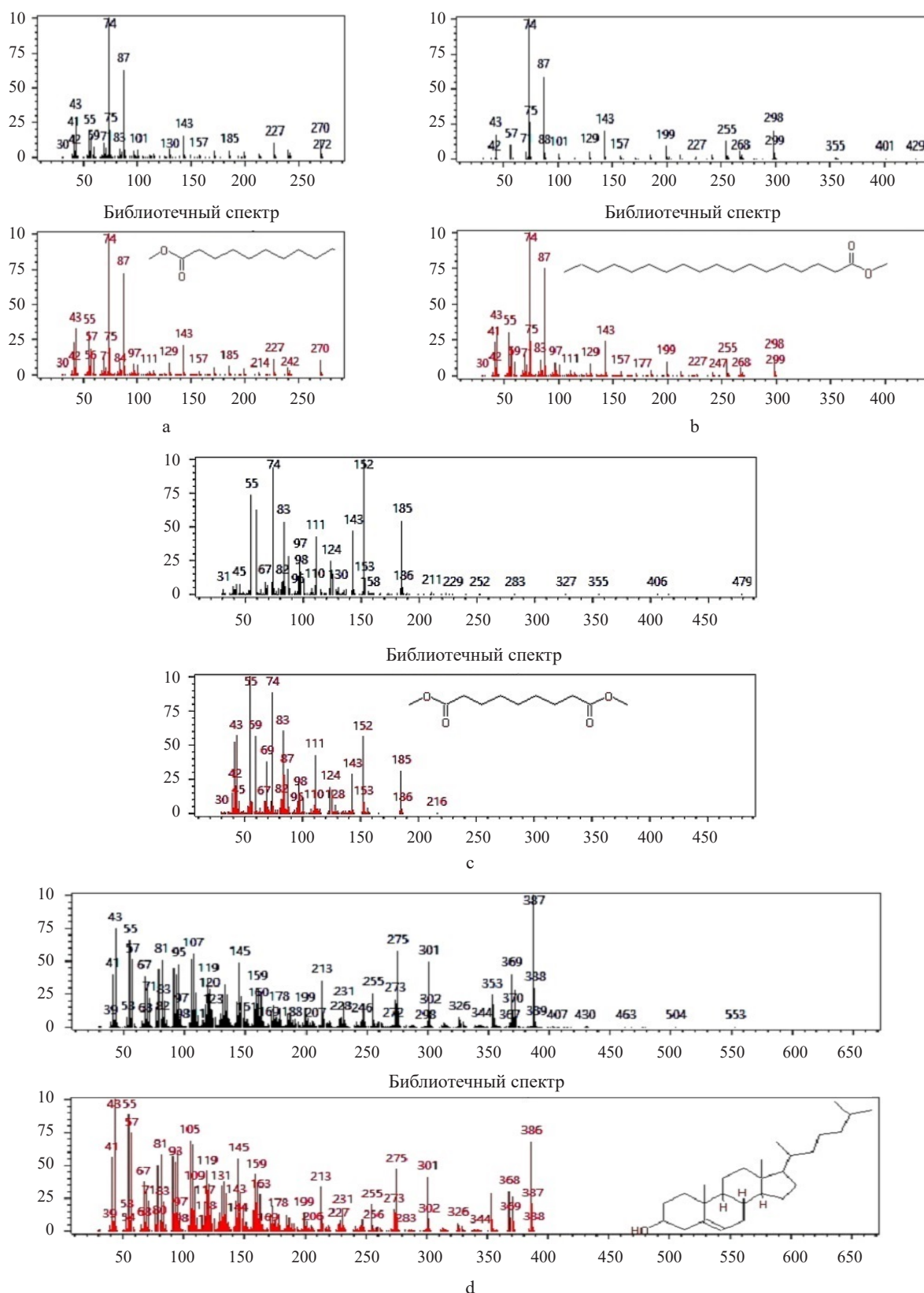


Рисунок 5. Полученные масс-спектры идентифицируемых веществ в сравнении с их эталонными спектрами метиловых эфиров следующих кислот и соединений: а – пальмитиновая (вероятность совпадения 79 %); б – стеариновая (81 %); в – азелаиновая (91 %); д – холестерин (63 %)

Figure 5. Mass spectra of identified substances vs. reference spectra of methyl esters with coincidence probability, %: a – palmitic (79%); b – stearic (81%); c – azelaic (91%); d – cholesterol (63%)

На рисунке 5 для сравнения приведены масс-спектры некоторых соединений из числа представленных на рисунке 4, по которым проводилась идентификация веществ согласно вероятностному критерию совпадения полученного масс-спектра с эталонным.

Выводы

На примере определения липидов в двустворчатом моллюске *Cerastoderma glaucum* в стандартные методы, благодаря обновлению технических средств и авторским идеям, был внес ряд дополнений и уточнений. Это позволяет сократить расход реактивов по сравнению с классическим методом Фолча.

Применение двумерного способа разделения общих липидов на классы методом многомерной тонкослойной хроматографии позволило разделить их на фосфолипиды, моноглицериды, диглицериды, стеролы, свободные жирные кислоты и триацилглицерины, используя наименьшее количество реактивов и времени за счет снижения точности определения класса фосфолипидов. Денситометрический метод расчета концентраций классов липидов с помощью программы ТСХ менеджер 4.0.2.3D упрощает процесс расчета и улучшает качество и точность определения.

Предложенный вариант проведения пробоподготовки для определения жирных кислот в общих липидах методом хромато-масс-спектрометрии имеет такое преимущество, как минимальная потеря нативной структуры веществ, и является более мягким по сравнению с широко применяемым методом дериватизации проб.

Применение этого комплексного подхода в определении липидов моллюсков является экономичным, менее затратным по времени и реактивам, а также подходит для применения в небольших биохимических лабораториях.

Критерии авторства

А. В. Бородина предложила тему исследования, собрала материал и поставила методы определения общих липидов и их разделения на классы с помощью многомерной тонкослойной хроматографии, а также денситометрическое измерение фосфолипидов, моноглицеридов, диглицеридов, стеридов и

триацилглицеринов соответственно. А. В. Бородина отвечает за общее оформление работы и написание первой методической части работы (определение общих липидов и разделение многомерной тонкослойной хроматографией), а также за переписку с редакцией.

Ю. О. Веляев предложил способ дериватизации образца, содержащего общие липиды, провел пробоподготовку образца предложенным методом и настройку метода ввода пробы, а также газохроматографический анализ. Ю. О. Веляев отвечает за вопросы по описанию метода определения жирных кислот в общих липидах методом хромато-масс-спектрометрии.

А. Р. Осокин выполнил обработку и интерпретацию полученных данных, а также оформление части рукописи, которая касалась описания процесса газохроматографического исследования и пробоподготовки образца, содержащего общие липиды.

Конфликт интересов

Авторы утверждают, что у них нет конфликта интересов.

Contribution

A.V. Borodina proposed the research topic, collected the material, and set up methods for determining total lipids and their classification, as well as densitometric measurement of phospholipids, monoglycerides, diglycerides, sterols and triacylglycerols. A.V. Borodina also developed the general research design, wrote the paragraphs on total lipids and separation, and provided correspondence with the editors.

Yu.O. Veliaev proposed the method for derivatization of total lipids, performed the sample preparation, adjusted the injection method, and conducted the gas chromatographic analysis. Yu.O. Veliaev also described the method for determining fatty acids in total lipids by chromatography-mass spectrometry.

A.R. Osokin processed and interpreted the data, as well as described the gas chromatographic research and the sampling for total lipids.

Conflict of interest

The authors declared no conflict of interests regarding the publication of this article.

References/Список литературы

1. Parnova RG. Lipids as signaling platforms and signaling molecules. Journal of Evolutionary Biochemistry and Physiology. 2020;56(7):824–825. (In Russ.). <https://doi.org/10.31857/S0044452920072176>
2. Lisovaya EV, Viktorova EP, Sverdlichenko AV, Zhane MR. Effect of ultrasonic exposure on the efficiency of de-oiling fluid lecithins. Food Processing: Techniques and Technology. 2023;53(3):445–454. (In Russ.). <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2023-3-2447>
3. Bakaytis VI, Golub OV, Miller YuYu. Fresh and processed wild *Cantharellus cibarius* L. growing in West Siberia: food value. Foods and Raw Materials. 2021;9(2):234–243. <https://doi.org/10.21603/2308-4057-2021-2-234-243>

4. Fokina NN, Ruokolainen TR, Nemova NN, Martynova DM, Sukhotin AA. Fatty acids distribution in seston, tissues, and faecal pellets of blue mussels *Mytilus edulis* L. Doklady Biochemistry and Biophysics. 2020;495(1):624–631. (In Russ.). <https://doi.org/10.31857/S2686738920060074>
5. Mahony KE, Egerton S, Lynch SA, Blanchet H, Goedknecht MA, Groves E, et al. Drivers of growth in a keystone fished species along the European Atlantic coast: The common cockle *Cerastoderma edule*. Journal of Sea Research. 2022;179. <https://doi.org/10.1016/j.seares.2021.102148>
6. Carss DN, Brito AC, Chainho P, Ciutat A, de Montaudouin X, Otero RMF, et al. Ecosystem services provided by a non-cultured shellfish species: The common cockle *Cerastoderma edule*. Marine Environmental Research. 2020;158. <https://doi.org/10.1016/j.marenvres.2020.104931>
7. Kopyi VG, Bondarenko LV. Atlas of the inhabitants of the pseudo-littoral of the Sea of Azov – Black Sea coast of Crimea. Sevastopol: IBSS; 2020. 120 p. (In Russ.). <https://doi.org/10.21072/978-5-6044865-1-1>
8. Bejaoui S, Chaâbane M, Fouzai C, Chetoui I, Chalbi E, Nechi S, et al. Exploring the impacts of mercury chloride exposure on fatty acids profile, oxidative stress response and histomorphological aspect of *Cerastoderma edule* detoxifying organs. Ecological Indicators. 2020;118. <https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2020.106798>
9. Folch J, Lees M, Sloane Stanley CH. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissue. Journal of Biological Chemistry. 1957;226(1):497–509. [https://doi.org/10.1016/S0021-9258\(18\)64849-5](https://doi.org/10.1016/S0021-9258(18)64849-5)
10. Mikryakov DV, Mikryakov VR, Gordeev II. Lipid composition and oxidation processes in the blood and internal organs of the Antarctic toothfish *Dissostichus mawsoni* Norman, 1937 (Nototheniidae). Russian Journal of Marine Biology. 2021;47(3):160–166. (In Russ.). <https://doi.org/10.31857/S0134347521030098>
11. Kopytov YuP. A new variant of thin-layer chromatography for lipids and hydrocarbons. Ekologiya moray. 1983;13:76–80. (In Russ.). [Копытов Ю. П. Новый вариант тонкослойной хроматографии липидов и углеводов // Экология моря. 1983. Т. 13. С. 76–80.]. <https://elibrary.ru/YURATJ>
12. Murzina SA, Pekkoeva SN, Churova MV, Nefedova ZA, Filippova KA, Falk-Petersen S, et al. Daily dynamics of lipids and fatty acids and the activity of enzymes of the energy and carbohydrate metabolism in young fish of the daubed shanny *Leptoclinus maculatus* (Fries, 1838) at different developmental stages during polar night. Ontogenez. 2020;51(2):143–153. (In Russ.). <https://doi.org/10.31857/S047514502002007X>
13. Merdzhanova A, Panayotova V, Dobрева D, Bratoeva K, Makedonski L. Health-beneficial properties of Black Sea shellfish for the Bulgarian consumers. Proceedings of the Nutrition Society. 2020;79. <https://doi.org/10.1017/S0029665120005285>
14. Eibler D, Krüger S, Skirnisson K, Vetter W. Combined thin layer chromatography and gas chromatography with mass spectrometric analysis of lipid classes and fatty acids in malnourished polar bears (*Ursus maritimus*) which swam to Iceland. Journal of Chromatography B. 2017;1046:138–146. <https://doi.org/10.1016/j.jchromb.2017.01.043>
15. Voronin AV. The densitometric quantitation of some drugs in whole blood. Bashkortostan Medical Journal. 2018;13(2):40–43. (In Russ.). [Воронин А. В. Денситометрическое определение некоторых лекарственных веществ в крови // Медицинский вестник Башкортостана. 2018. Т. 13. № 2. С. 40–43.]. <https://elibrary.ru/USBUNE>
16. Renkevich AYU, Kulikov AYU. Developing and validating a quantitative determination method for 4-aminobutanoic acid in sodium alendronate tablets using micellar thin layer chromatography. Methods and Objects of Chemical Analysis. 2013;8(4):199–206. (In Russ.). [Ренкевич А. Ю., Куликов А. Ю. Разработка и валидация методики количественного определения 4-аминобутановой кислоты в таблетках алендроната натрия методом мицеллярной тонкослойной хроматографии // Методы и объекты химического анализа. 2013. Т. 8. № 4. С. 199–206.].
17. Zakharenko AM, Kirichenko KYu, Vakhniuk IA, Golokhvast KS. Supercritical extraction technology of obtaining polyunsaturated acids from starfish (*Lysastrosoma anthosticta* Fisher, 1922). Food Processing: Techniques and Technology. 2021;51(4):753–758. <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2021-4-753-758>
18. Chen C, Li R, Wu H. Recent progress in the analysis of unsaturated fatty acids in biological samples by chemical derivatization-based chromatography-mass spectrometry methods. Journal of Chromatography B. 2023;1215. <https://doi.org/10.1016/j.jchromb.2022.123572>
19. Juarez M, Polvillo O, Contò M, Ficco A, Ballico S, Failla S. Comparison of four extraction/methylation analytical methods to measure fatty acid composition by gas chromatography in meat. Journal of Chromatography A. 2008;1190(1–2):327–332. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2008.03.004>
20. Irwinda R, Hiksas R, Siregar AA, Saroyo YB, Wibowo N. Long-chain polyunsaturated fatty acid (LC-PUFA) status in severe preeclampsia and preterm birth: A cross sectional study. Scientific Reports. 2021;11. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-93846-w>
21. Qiu J, Ji Y, Fang Y, Zhao M, Wang S, Ai Q, et al. Response of fatty acids and lipid metabolism enzymes during accumulation, depuration and esterification of diarrhetic shellfish toxins in mussels (*Mytilus galloprovincialis*). Ecotoxicology and Environmental Safety. 2020;206. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2020.111223>
22. Panayotova V, Merdzhanova A, Stancheva R, Dobрева DA, Peycheva K, Makedonski L. Farmed mussels (*Mytilus galloprovincialis*) from the Black Sea reveal seasonal differences in their neutral and polar lipid fatty acids profile. Regional Studies in Marine Science. 2021;44. <https://doi.org/10.1016/j.rsma.2021.101782>

23. Hernando M, de Troch M, de la Rosa F, Giannuzzi L. Fatty acid response of the invasive bivalve *Limnoperna fortunei* with *Microcystis aeruginosa* exposed to high temperature. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology and Pharmacology*. 2021;240. <https://doi.org/10.1016/j.cbpc.2020.108925>
24. Fiorini R, Ventrella V, Trombetti F, Fabbri M, Pagliarani A, Nesci S. Lipid-protein interactions in mitochondrial membranes from bivalve mollusks: Molecular strategies in different species. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology*. 2019;227:12–20. <https://doi.org/10.1016/j.cbpb.2018.08.010>
25. Anganea M, Gupta S, Fletcher GC, Summers G, Hedderley DI, Quek SY. Effect of air blast freezing and frozen storage on *Escherichia coli* survival, n-3 polyunsaturated fatty acid concentration and microstructure of Greenshell™ mussels. *Food Control*. 2020;115. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2020.107284>
26. Peñuela-Jiménez JH, Guevara M, Saucedo PE, Núñez MP, Troccoli L, Freitas L. Influence of contrasting environmental variables on the fatty acid profile of the winged oyster *Pteria colymbus*. *Regional Studies in Marine Science*. 2021;41. <https://doi.org/10.1016/j.rsma.2020.101603>
27. Chaâbanea M, Bejaoui S, Trabelsi W, Telahigue K, Chetoui I, Chalhaf M, *et al.* The potential toxic effects of hexavalent chromium on oxidative stress biomarkers and fatty acids profile in soft tissues of *Venus verrucosa*. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 2020;196. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2020.110562>
28. Almutairi AW, El-Sayed AE-KB, Reda MM. Combined effect of salinity and pH on lipid content and fatty acid composition of *Tisochrysis lutea*. *Saudi Journal of Biological Sciences*. 2020;27(12):3553–3558. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2020.07.027>

<https://doi.org/10.21603/2074-9414-2023-4-2467>
<https://elibrary.ru/ATLTGA>

Original article
Available online at <https://fptt.ru/en>

***In Vitro* Probiotic Evaluation of Yeasts from Coconut and Raffia Juices**



Emenike O. Irokanulo*^{ID}, **Queen-Esther M. Yadung**^{ID},
Dolapo E. Orotayo^{ID}, **Charles O. Nwonuma**^{ID}, **Oreoluwa S. Alonge**^{ID}

Landmark University^{ROR}, Omu-Aran, Nigeria

Received: 03.02.2023

Revised: 15.05.2023

Accepted: 06.06.2023

*Emenike O. Irokanulo: eirokanulo@yahoo.co.uk,

<https://orcid.org/0000-0002-9765-1517>

Queen-Esther M. Yadung: <https://orcid.org/0000-0001-6350-5266>

Dolapo E. Orotayo: <https://orcid.org/0000-0002-0623-2801>

Charles O. Nwonuma: <https://orcid.org/0000-0001-8930-055X>

Oreoluwa S. Alonge: <https://orcid.org/0000-0003-3815-0509>

© E.O. Irokanulo, Q.-E.M. Yadung, D.E. Orotayo,
C.O. Nwonuma, O.S. Alonge, 2023



Abstract.

Eukaryotic probiotics currently attract a lot of scientific attention, with *Saccharomyces cerevisiae* and *Saccharomyces boulardii* being the most widely investigated probiotic yeasts. The range of yeast species with probiotic potential needs to be broadened. In this respect, juice-providing plants may diversify eukaryotic probiotic sources for organism preference.

This study tested the probiotic potential of *Pichia kudriavzevii* and *Kluyveromyces marxianus* isolated from coconut juice and *Schizosaccharomyces pombe* and *Wickherhamomyces anomalus* isolated from raffia palm juice in Nigeria. The *in vitro* tests used the optical density method to assay the tolerance to acid (pH 2, 3, 5), alkaline (pH 7.5, 8.0), gastric juice (30%), bile (1, 2, and 3%), and osmotic pressure (5, 10, 15, 20, 25, and 30% glucose solution).

All four yeasts survived in the test environments, exhibiting varying degrees of probiotic potential. After 96 h in simulated gastric juice, *S. pombe* outperformed *K. marxianus* and *W. anomalus* by 13 and 97.7% ($p < 0.05$), respectively. *W. anomalus* appeared to be the least viable in 30% gastric juice. After 96 h in the acid media, all yeasts performed better at pH 3.0 than at pH 2.0, with roughly 89% (1.695/0.185 mean absorbance values) greater growth in pH 3.0 than in pH 2.0. The alkaline media had a better effect on the growth rate. *P. kudriavzevii* fared best at pH 2.0 and 3.0 for up to 96 h. All yeasts maintained viability in 1, 2, and 3% bile solutions, although the growth rate did not improve significantly in any of the assay periods. Only minimal growth increase was registered in increased bile concentrations. All samples demonstrated sustained viability in 5–30% glucose between 24 and 48 h of incubation. After 48 h of incubation, the yeast concentrations began to fall as the glucose concentration rose from 5 to 30%. *P. kudriavzevii* was the least affected after 96 h (41.8%) and demonstrated the best survival results by the four criteria tested in this study.

If this species meets all other non-assayed parameters which qualify a microorganism as a probiotic, *P. kudriavzevii* obtained from Nigerian coconut juice can be recommended as a potential source of commercial probiotics.

Keywords. Probiotics, yeasts, *in vitro*, absorbance, coconut juice, raffia juice, viability

For citation: Irokanulo EO, Yadung Q-EM, Orotayo DE, Nwonuma CO, Alonge OS. *In Vitro* Probiotic Evaluation of Yeasts from Coconut and Raffia Juices. Food Processing: Techniques and Technology. 2023;53(4):672–679. <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2023-4-2467>

Дрожжи из соков кокоса и рафии: пробиотическая оценка *in vitro*



Э. О. Ирокануло*^{ORCID}, К.-Э. М. Ядунг^{ORCID},
Д. Э. Оротайо^{ORCID}, Ч. О. Нвонума^{ORCID}, О. С. Алонге^{ORCID}

Университет Лэндмарк^{ORCID}, Ому-Аран, Нигерия

Поступила в редакцию: 03.02.2023
Принята после рецензирования: 15.05.2023
Принята к публикации: 06.06.2023

*Э. О. Ирокануло: eirokanulo@yahoo.co.uk,
<https://orcid.org/0000-0002-9765-1517>
К.-Э. М. Ядунг: <https://orcid.org/0000-0001-6350-5266>
Д. Э. Оротайо: <https://orcid.org/0000-0002-0623-2801>
Ч. О. Нвонума: <https://orcid.org/0000-0001-8930-055X>
О. С. Алонге: <https://orcid.org/0000-0003-3815-0509>

© Э. О. Ирокануло, К.-Э. М. Ядунг, Д. Э. Оротайо,
Ч. О. Нвонума, О. С. Алонге, 2023



Аннотация.

Эукариотические пробиотики привлекают внимание ученых. Наиболее изученными видами дрожжей – источниками пробиотиков – являются *Saccharomyces cerevisiae* и *Saccharomyces boulardii*. Спектр видов дрожжей с пробиотическим потенциалом можно расширить за счет растений, использующихся в качестве сырья при производстве напитков.

Объект исследования – пробиотический потенциал дрожжей *Pichia kudriavzevii* и *Kluyveromyces marxianus*, выделенных из кокосового сока, а также *Schizosaccharomyces pombe* и *Wickherhamomyces anomalus*, выделенных из пальмового сока рафии (Нигерия). Методом оптической плотности *in vitro* определили толерантность к кислоте (pH 2, 3 и 5), щелочи (pH 7,5 и 8,0), желудочному соку (30 %), желчи (1, 2 и 3 %) и осмотическому давлению (раствор глюкозы 5, 10, 15, 20, 25 и 30 %).

Все четыре вида дрожжей выжили, продемонстрировав разную степень пробиотического потенциала. После 96 ч пребывания в искусственном желудочном соке *S. pombe* превзошли по численности *K. marxianus* и *W. anomalus* на 13 и 97,7 % ($p < 0,05$) соответственно. В 30 % растворе желудочного сока наименее жизнеспособными оказались дрожжи вида *W. anomalus*. После 96 ч в кислой среде все образцы оказались более жизнеспособными при pH 3,0, чем при pH 2,0 – приблизительно на 89 %. Щелочная среда оказала благоприятное воздействие на скорость роста. Дрожжи *P. kudriavzevii* продемонстрировали лучшие показатели выживаемости при pH 2,0 и 3,0 в течение 96 ч. Все дрожжи сохраняли жизнеспособность в 1, 2 и 3 % растворах желчи, хотя скорость роста существенно не увеличилась. Повышение концентрации желчи вызвало минимальное увеличение роста. После 24–48 ч инкубации в 5–30 % растворах глюкозы все образцы продемонстрировали устойчивую жизнеспособность. После 48 ч инкубации концентрация дрожжей начала падать, а концентрация глюкозы выросла с 5 до 30 %. Вид *P. kudriavzevii* оказался наиболее жизнеспособным через 96 ч (41,8 %) по всем четырем критериям.

Если дальнейшие исследования подтвердят, что этот вид соответствует остальным, не охваченным в рамках данной работы параметрам, которые позволяют квалифицировать микроорганизм как пробиотик, то дрожжи *P. kudriavzevii*, полученные из сока нигерийского кокоса, могут быть рекомендованы в качестве потенциального источника коммерческих пробиотиков.

Ключевые слова. Пробиотики, дрожжи, *in vitro*, абсорбция, кокосовый сок, сок рафии, жизнеспособность

Для цитирования: Дрожжи из соков кокоса и рафии: пробиотическая оценка *in vitro* / Э. О. Ирокануло [и др.] // Техника и технология пищевых производств. 2023. Т. 53. № 4. С. 672–679. (На англ.). <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2023-4-2467>

Introduction

Probiotics have a long history, dating back over 10 000 years. Fermented foods, such as yogurt, are high in probiotics and are widely consumed worldwide. These days, probiotics are part of various healthy diets, and supplements with probiotic microbes have long established themselves in commercial production [1, 2].

Criteria for *in vitro* assessment of potential probiotics. In 2002, the Food and Agriculture Organization of the United Nations published guidelines for evaluating probiotics in a variety of foods. Currently, the criteria for evaluating probiotic candidates include: low pH tolerance, bile salt tolerance, osmotolerance, phenotypic and genotypic stability, carbohydrate tolerance, etc.

In addition, probiotics possess antimicrobial activity against *Listeria monocytogenes*, *Shigella flexneri*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella enteritidis*, enteropathogenic *Escherichia coli*, *Escherichia coli* O157 H7, and *Bacillus cereus* [3, 4].

Although the exact mechanism through which probiotics exert their positive benefits remains uncertain, a range of beneficial outcomes derived from probiotics is well documented [5].

Sources of probiotics. Previously, most probiotics ingested by humans came from fermented foods, e.g., dairy products. Eventually, the human body itself became the predominant source, with faces and breast milk serving as the primary providers. Probiotics isolated from human breast milk are mainly of the *Lactobacillus* genus, while those isolated from feces of healthy human adults and breastfed infants belong to *Lactobacilli* and *Bifidobacterium* [6].

Fermented foods with potential probiotics can be of plant or animal origin. All other probiotic organisms are bacterial species, except for *Saccharomyces cerevisiae* (bakery and brewing), *Saccharomyces bayanus* (wine-making), and *Saccharomyces boulardii*. These yeasts have been isolated from a variety of sources, including soy paste, and used as a probiotic in medicine [7, 8].

In Middle Eastern countries, fermented foods are abundant sources of lactic acid bacteria. The list includes parboiled dried wheat, garlic, parsley and olives among many others. Non-germinated cereals, such as sorghum and millet grains, are known for their functional properties [9]. Traditional non-dairy fermented beverages are also high in probiotics. They are made from millets, legumes, fruits, and vegetables [10, 11]. Probiotic features of lactic acid bacteria include resistance to pH 3 and 3% bile, as well as antibacterial activity against *S. aureus*, *E. coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, and *Enterococcus faecalis*. Such new developments as paraprobiotics and postbiotics go beyond the current trend of consuming live bacteria in food or as supplements: they imply that bacterial viability alone may not be required for health benefits. This discovery presents a potential opportunity for functional food producers [12].

Coconut and raffia palm juice are widely consumed around the world. In tropical countries such as Nigeria, they are natural refreshing beverages used to quench thirst. In addition to minerals, these fruit drinks contain several local microorganisms. For instance, coconut juice contains *Pichia kudriavzevii* and *Kluyveromyces marxianus* while raffia palm juice contains *Schizosaccharomyces pombe* and *Wickherhamomyces anomalus*. *Raphia rinfera*, *Raphia hookeri*, and *Elaeis guineensis* are the most common sources of palm wine in Nigeria. Fresh palm wine is widely regarded as a healthy beverage that aids lactation, heals conjunctivitis, and even improves vision [13, 14]. This delicious drink is popular in south-eastern Nigeria, as well as in many tropical countries all over the world, including Asia and South America.

This study featured four yeasts. *P. kudriavzevii* and *K. marxianus* were isolated from coconut juice; *S. pombe* and *W. anomalus* came from raffia palm juice. They were tested for potential use as probiotics.

Study objects and methods

Yeast strains. *Pichia kudriavzevii* and *Kluyveromyces marxianus* (coconut juice) and *Schizosaccharomyces pombe* and *Wickherhamomyces anomalus* (raffia palm juice) were obtained from the Microbiology Department of Landmark University, Omu-Aran, Nigeria. They were subjected to four *in vitro* tests: survival in low and alkaline pH, survival in 30% simulated gastric juice, survival in 1, 2, and 3% bile, and survival in 5, 10, 15, 20, 25, and 30% sugar (glucose) to check osmotolerance.

Culture conditions. This study employed yeast extract peptone dextrose broth and agar as culture media. After purification, the yeasts were counted to obtain 10^9 CFU/mL in sterile phosphate buffered saline, as proposed by Moradi *et al.* [15]. The tests took place within 60 min after the count.

Gastric juice tolerance test. To test the capacity of the yeasts to survive in simulated gastric juice, we modified the procedure described by Lohith & Anu Appaiah and Ragavan & Das [16, 17]. In brief, the simulated gastric juice was prepared by dispensing 10 mL of phosphate buffered saline (0.9% w/v) into sterile universal tubes ($n = 4$) and adjusting pH to 2.0 with HCl. After that, we added 0.03 g pepsin into the solution to achieve a concentration of 3 mg/mL. Subsequently, we put 20 μ L of overnight cultures ($\sim 10^9$ CFU/mL) of each yeast into the simulated gastric juice to inoculate and incubate them at 37°C for 90 min. Following the incubation, 10 μ L simulated gastric juice with yeast cultures was added to 10 mL yeast extract peptone dextrose broth. Each test was performed in triplicates. The optical density (absorbance) values made it possible to determine the viability of the yeasts spectrophotometrically. The test involved the use of a UV/VIS Spectrophotometer, Model AE S80-2S (A&E Lab, UK). After 0, 24, 48, 72, and 96 h of incubation, we measured the absorbance at 660 nm. All the tests were carried out in triplicates, and each value was a mean calculated from all three.

Survival in acid and alkaline environments. The study used the methods developed by Lohith & Anu Appaiah and Ragavan & Das with minimal modifications [16, 17]. The pH of the yeast extract peptone dextrose broth was adjusted with 1N HCL to 2.0, 3.0, and 5.0 for acidic conditions. For alkaline conditions, the adjustment was carried out using 1N NaOH to bring pH up to 7.5 and 8.0. The samples of pH-adjusted yeast extract peptone dextrose broth (9.9 mL) were dispensed into clean universal bottles. After that, we inoculated 0.1 mL ($\sim 10^9$ CFU/mL) yeasts purified in phosphate buffered saline into 9.9 mL of pH-adjusted broths. The obtained mixes were swirled to homogenate. The absor-

bance of each inoculated broth at 660 nm was measured before incubation and repeated the procedure every 24 h for a total of 96 h. All the tests were carried out in triplicates, and the growth and survival of the yeasts were measured from the mean absorbance values recorded for each yeast organism.

Bile tolerance test. We prepared 1, 2, and 3% bile in the yeast extract peptone dextrose broth. Then, we dispensed 0.2 mL ($\sim 10^9$ CFU/mL) of overnight culture in phosphate buffered saline into the broth and mixed. The absorbance of the broth cultures was measured at 660 nm before the incubation and 24, 48, 72, and 96 h after the incubation. All the tests were carried out in triplicates, and each value was a mean calculated from all three.

Osmotolerance test. Glucose concentrations of 5, 10, 15, 20, 25, and 30% (w/v) were prepared in the yeast extract peptone dextrose broth. From each of these stock solutions, we dispensed 19.8 mL into sterile universal tubes, to which was added 0.2 mL ($\sim 10^9$ CFU/mL) of each yeast (in phosphate buffered saline) for subsequent testing. The test included three replicates per yeast. Before incubation, the absorbance of the broth cultures was read at 660 nm. During the incubation, measurement of the absorbance was repeated every 24 h for a total of 96 h and the mean values calculated.

Results and discussion

Gastric juice tolerance test. Three of the four yeasts showed remarkable ability to thrive in the simulated 30% gastric juice at pH 2.0 and 37°C for 96 h. *Schizosaccharomyces pombe* demonstrated the best results with absorbance value of 2.704 at 96 h. Its concentration exceeded that of *Kluyveromyces marxianus* by 13% and that of *Wickerhamomyces anomalus* by 97.7% ($p < 0.05$). *W. anomalus* appeared to be the least viable yeast in the 30% gastric juice environment. The samples showed no significant difference ($p > 0.05$) in viability within the first 24 h. *Pichia kudriavzevii*, with an absorbance value of 1.984 at 96 h, showed no significant difference ($p > 0.05$) from *S. pombe* (2.704) and *K. marxianus* (2.352) after 96 h. However, its difference from *W. anomalus* for the same period was significant ($p < 0.05$) (Fig. 1).

Acid and alkaline tolerance test. All four yeasts exhibited acidic tolerance, with *P. kudriavzevii* showing evidence of remarkable survival at pH 2.0 and 3.0 for up to 96 h when compared to *S. pombe*, *W. anomalus*, and *K. marxianus*. Notwithstanding, all the yeasts fared better at pH 3.0 than at pH 2.0 with an approximately 89% (1.695/0.185 mean OD values) higher growth in pH 3.0 and 2.0, respectively, after 96 h (Figs. 2a and b). Similarly, all four yeasts grew better at pH 5.0 than at pH 3.0 and 2.0. For pH 5.0, we recorded a mean increase of 14.05% for all four yeasts after 96 h. *K. marxianus* and *P. kudriavzevii* showed better survival results (Fig. 2c). At 96 h, *S. pombe* and *W. anomalus* survived best in

the alkaline medium, with no discernible difference between growth and survival results in acidic pH 5.0 and alkaline pH 7.5 and 8.0. (Figs. 2c, d, e, and f).

Bile tolerance test. *S. pombe* maintained stable concentration in all three bile solutions for 96 h while other yeasts showed variable concentrations after 48 h (Fig. 3).

Each of the assay periods demonstrated minimal but not appreciable differences in yeast concentrations between 1 and 2% bile and between 2 and 3% bile.

P. kudriavzevii was consistently the most viable species in 1, 2, and 3% bile medium, especially at 48 h.

Osmotolerance test. All four yeasts demonstrated signs of survival (5–30%) in the glucose solutions (Figs. 4a–f). *P. kudriavzevii*, *K. marxianus*, and *W. anomalus* reduced in concentration as the glucose concentration increased from 5 to 30%. However, their concentrations increased as the incubation time proceeded from 0 to 96 h.

S. pombe followed the same pattern as the other three yeasts but had a slightly lower concentration as the incubation time increased from 0 to 96 h.

Overall, as the concentration of glucose increased from 5 to 30% after 48 h of incubation, we detected a variable degree of reduction in yeast concentrations, with *P. kudriavzevii* being the least affected (Fig. 4g).

Such yeast strains as *Saccharomyces boulardi* are popular in healthcare and food industry for their well documented therapeutic properties, e.g., alleviation of digestive issues. *K. marxianus* is another highly researched probiotic yeast with a set of established methods of screening and assessing probiotic potential [15].

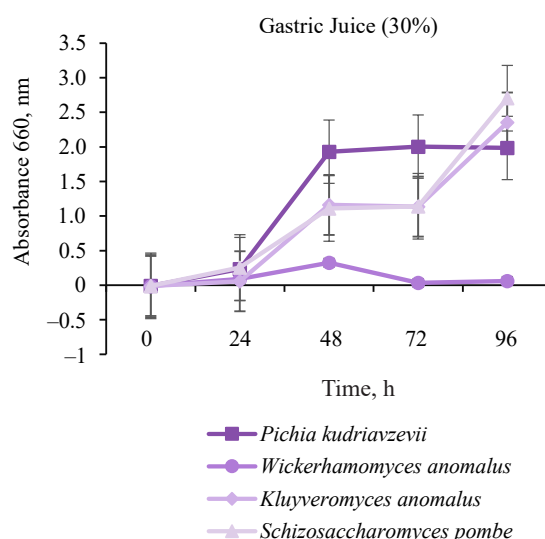


Figure 1. Viability of *Schizosaccharomyces pombe*, *Wickerhamomyces anomalus*, *Kluyveromyces marxianus*, and *Pichia kudriavzevii* in 30% simulated gastric juice

Рисунок 1. Жизнеспособность дрожжей *Schizosaccharomyces pombe*, *Wickerhamomyces anomalus*, *Kluyveromyces marxianus* и *Pichia kudriavzevii* в 30 % искусственном желудочном соке

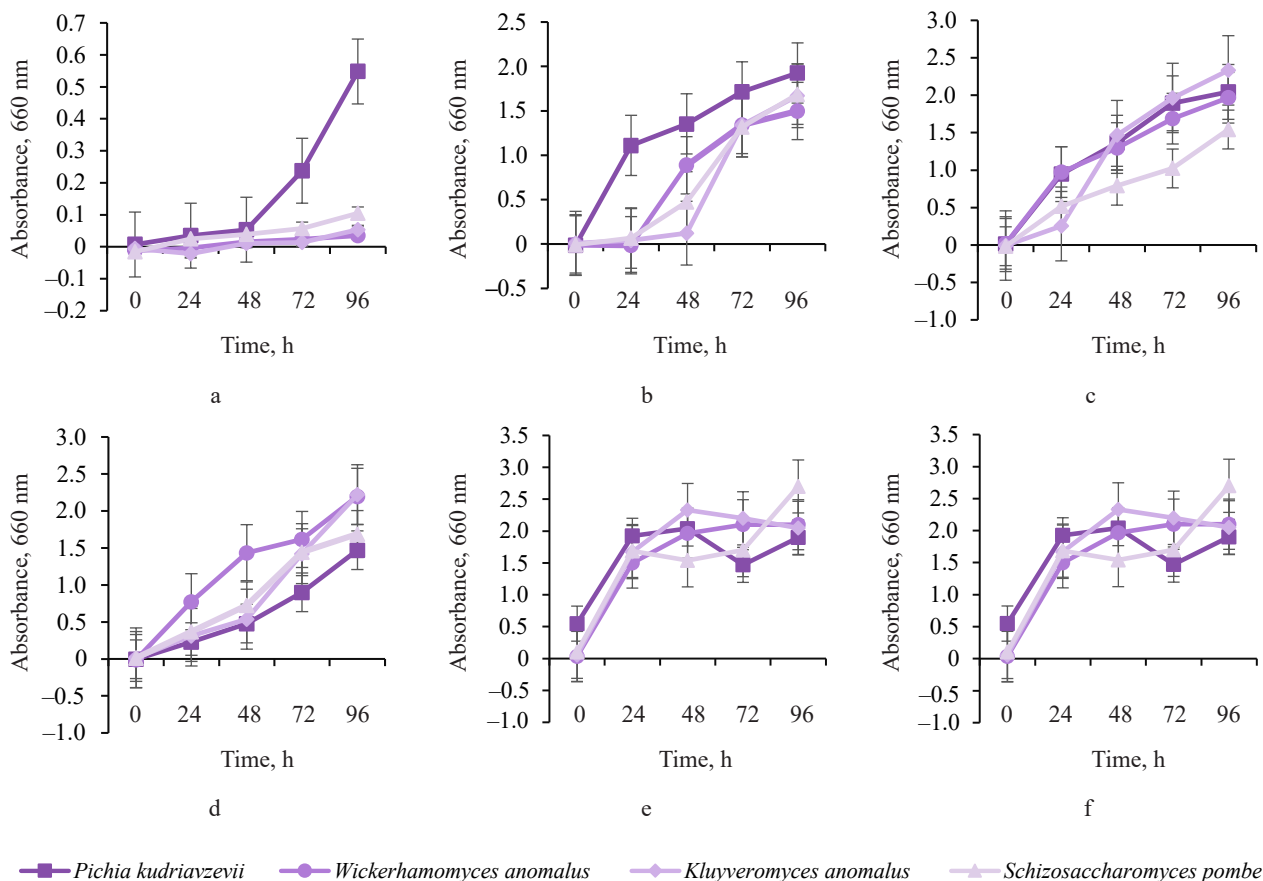


Figure 2. Viability of *Schizosaccharomyces pombe*, *Wickerhamomyces anomalus*, *Kluyveromyces marxianus*, and *Pichia kudriavzevii* at pH 2.0 (a), 3.0 (b), 5.0 (c), 7.5 (d), and 8.0 (e); after 96 h of incubation (f)

Рисунок 2. Жизнеспособность дрожжей *Schizosaccharomyces pombe*, *Wickerhamomyces anomalus*, *Kluyveromyces marxianus* и *Pichia kudriavzevii* при pH = 2,0 (a), 3,0 (b), 5,0 (c), 7,5 (d) и 8,0 (e) и после 96 часов инкубации (f)

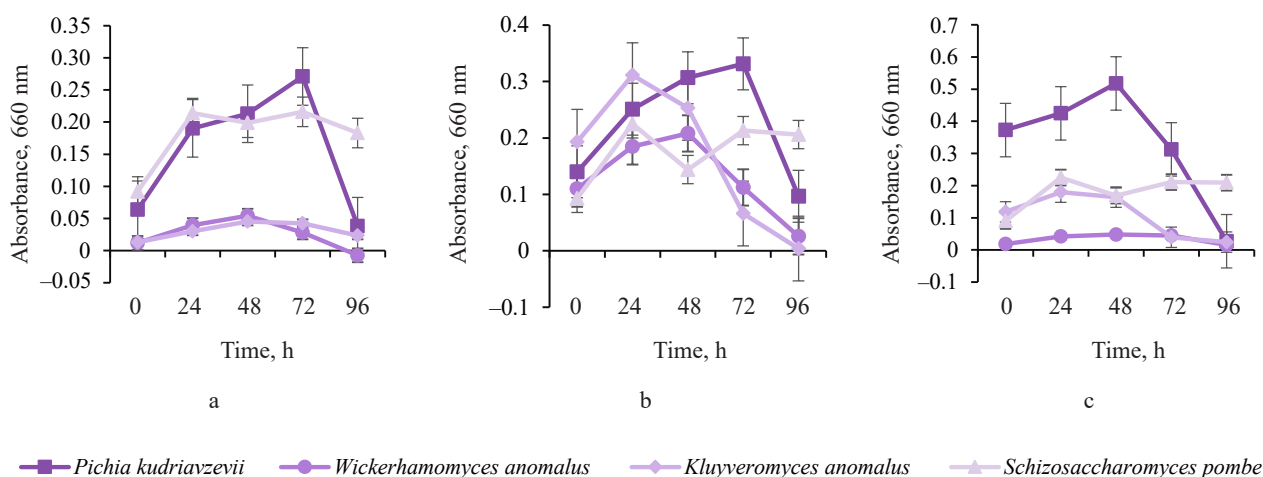


Figure 3. Viability of *Schizosaccharomyces pombe*, *Wickerhamomyces anomalus*, *Kluyveromyces marxianus*, and *Pichia kudriavzevii* in 1 (a), 2 (b), and 3% (c) bile solution

Рисунок 3. Жизнеспособность *Schizosaccharomyces pombe*, *Wickerhamomyces anomalus*, *Kluyveromyces marxianus* и *Pichia kudriavzevii* в 1 (a), 2 (b) и 3% (c) растворе искусственной желчи

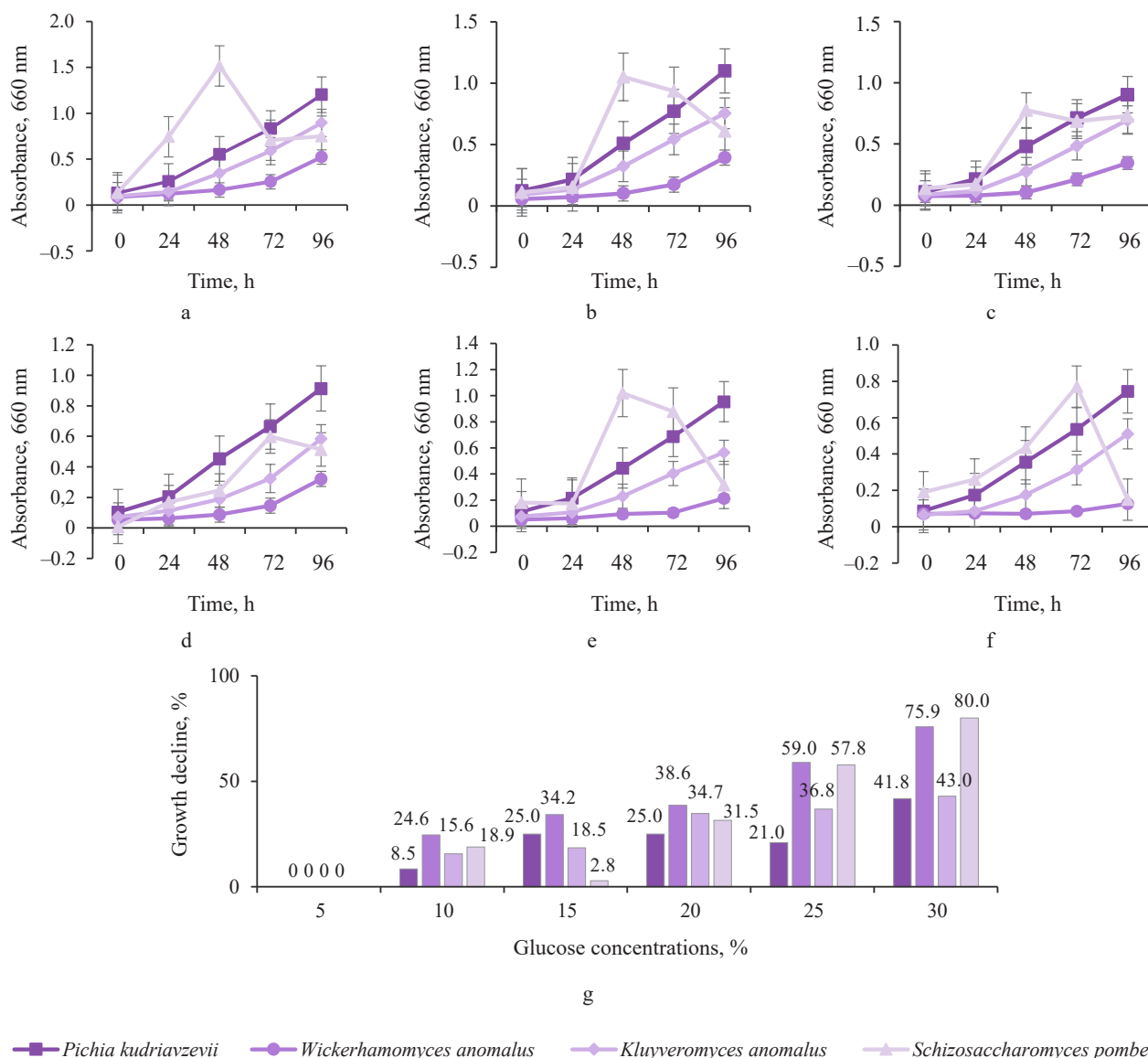


Figure 4. Viability of *Schizosaccharomyces pombe*, *Wickerhamomyces anomalus*, *Kluyveromyces marxianus*, and *Pichia kudriavzevii* in increasing glucose concentration 5% (a), 10% (b), 15% (c), 20% (d), 25% (e), 30% (f); decline in viability yeast (g), 96 h after incubation

Рисунок 4. Жизнеспособность дрожжей *Schizosaccharomyces pombe*, *Wickerhamomyces anomalus*, *Kluyveromyces marxianus* и *Pichia kudriavzevii* при повышении концентрации глюкозы 5 % (а), 10 % (б), 15 % (в), 20 % (г), 25 % (е), 30 % (ф); снижение жизнеспособности дрожжей (г), 96 ч после инкубации

Because low pH is one of the most basic criteria, most *in vitro* studies recommend selecting probiotic yeast strains that can grow at extremely low pH. All the yeasts tested in this work showed resilience to low pH of 2, 3, and 5 for up to 96 h. *P. kudriavzevii* performed remarkably well: its ability to thrive in low pH exceeded that of the other three yeasts. In addition, its pH corresponded to the pH range of human stomach, which is 1.5–3.5. This fact qualified *P. kudriavzevii* as a probiotic candidate, provided the strain meets other, untested criteria. The pH of human intestine ranges between 6 and 7, and all the yeasts in this study were able

to thrive in a comparable environment, which also indicates their probiotic potential.

In a previous study, Moradi *et al.* compared *Saccharomyces cerevisiae* with *K. marxianus* and different strains of *P. kudriavzevii* [15]. They reported that the other yeasts thrived better in acid environments than *S. cerevisiae*. Our findings imply that *P. kudriavzevii* and *K. marxianus* from coconut juice, as well as *S. pombe* and *W. anomalus* from raffia juice, may have probiotic properties.

If these yeasts meet all other probiotic criteria that were not investigated in this study, their ability to thrive in low pH environments, gastric juice, bile, and 5–30%

glucose qualifies them as prospective probiotic strains. The capacity of bacteria to thrive in the stomach environment with its hydrochloric acid depends on their survival in gastric juice. This requirement makes it critical to test bacteria and yeasts *in vitro* for their ability to survive in gastric juice as part of the probiotic approval assessment. In this study, three out of four yeasts, namely *P. kudriavzevii*, *K. marxianus*, and *S. pombe*, demonstrated substantial survival ability in simulated gastric juice. Earlier, Fadda *et al.* identified six *Kluyveromyces* strains from a variety of cheese and proved that all of them thrived in simulated gastric conditions at pH 3.0 [18]. In addition, Moradi *et al.* reported the survival of five strains that were very marginally affected by gastric juice exposure, with *K. marxianus* showing the most resistance [15]. In this respect, our findings are consistent with those mentioned above.

The small intestine and colon contain relatively large quantities of bile salts, which are poisonous to living cells. As a result, the ability of bacteria and yeasts to tolerate bile is now an important criterion for probiotic organisms [19]. In the human digestive environment, the optimal bile content ranges from 0.30 to 0.60%.

In this research, all four yeasts isolated from plant sources were able to grow in simulated bile salt concentrations of 1, 2, and 3%, all of which exceeded the optimal concentration in human intestine. Their ability to pass the bile tolerance test suggests that they could be effective as probiotics.

Yeast can use a wide range of carbohydrates, including glucose, to fuel its growth. *S. pombe*, *W. anomalus*, *K. marxianus*, and *P. kudriavzevii* survived well in all glucose concentrations (5–30%). Other studies identified *P. kudriavzevii* as an osmotolerant yeast species to be used in bioethanol production [20]. In our research, *P. kudriavzevii* and *K. marxianus* remained the most stable yeasts in the varied glucose concentrations, which makes them excellent candidates for probiotics.

Conclusion

Bacterial species, such as *Lactobacillus* and *Bifidobacterium*, are universally accepted probiotic organisms. Currently, the only probiotic yeast in use is

Saccharomyces boulardii. However, yeasts with therapeutic benefits can be found in a variety of fruits and dairy products that people consume on a regular basis in fermented drinks and yogurts.

As observed in this study, *Pichia kudriavzevii* isolated from coconut juice survived in both acidic and alkaline environments, concentrated gastric juice, 30% pepsin, 1–3% bile, and 5–30% glucose medium. Its survival properties exceeded those demonstrated by *Schizosaccharomyces pombe*, *Wickerhamomyces anomalus*, and *Kluyveromyces marxianus*. *P. kudriavzevii* showed acid and osmotolerance survival which corresponds with some earlier reports of its usefulness as an ethnological yeast strain [21]. However, the other three yeasts also exhibited reasonable probiotic potential, particularly *S. pombe*, which thrived in the bile medium.

Probiotics' microbial viability and metabolic activity must be maintained throughout the production process, i.e., fermentation, which demands further *in vitro* and *in vivo* studies [22]. In this study, *S. pombe*, *W. anomalus*, *K. marxianus*, and *P. kudriavzevii* all proved viable in each of the four conditions studied. Presumably, other plants used in national cuisines can offer new sources of eukaryotic probiotic organisms with potential commercial use as part of functional foods.

Contribution

The authors were equally involved in writing the manuscript and are equally responsible for plagiarism.

Conflict of interest

The authors declare that there is no conflict of interests regarding the publication of this article.

Критерии авторства

Авторы в равной степени участвовали в написании рукописи и несут равную ответственность за плагиат.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии потенциальных конфликтов интересов в отношении исследования, авторства и/или публикации данной статьи.

REFERENCES

1. Law G, Kemp R. Probiotics and health: understanding probiotic trials. The New Zealand Medical Journal. 2019; 132(1498):90–96.
2. Gryaznova MV, Burakova IYu, Smirnova YuD, Nesterova EYu, Rodionova NS, Popov ES, *et al.* Bacterial composition of dairy base during fermentation. Food Processing: Techniques and Technology. 2023;53(3):554–564. (In Russ.). <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2023-3-2456>
3. Agostini C, Eckert C, Vincenzi A, Machado BL, Jordon BC, Kipper JP, *et al.* Characterization of technological and probiotic properties of indigenous *Lactobacillus* spp. from south Brazil. 3 Biotech. 2018;8. <https://doi.org/10.1007/s13205-018-1469-7>
4. Lashani E, Davoodabadi A, Soltan Dallal MM. Some probiotic properties of *Lactobacillus* species isolated from honey and their antimicrobial activity against foodborne pathogens. Veterinary Research Forum. 2020;11(2):121–126. <https://doi.org/10.30466/vrf.2018.90418.2188>

5. Irokanulo EO, Akalegbere MA. Probiotics for gastrointestinal health and general wellbeing. *International Journal of Probiotics and Prebiotics*. 2020;15(1):22–29. <https://doi.org/10.37290/ijpp2641-7197.15:22-29>
6. Zimmermann P, Curtis N. Breast milk microbiota: A review of the factors that influence composition. *Journal of Infection*. 2020;81(1):17–47. <https://doi.org/10.1016/j.jinf.2020.01.023>
7. Hossain MN, Afrin S, Humayun S, Ahmed MM, Saha BK. Identification and growth characterization of a novel strain of *Saccharomyces boulardii* isolated from soya paste. *Frontiers in Nutrition*. 2020;7. <https://doi.org/10.3389/fnut.2020.00027>
8. Mahyar A, Ayazi P, Pashaei H, Arad B, Oveisi S, Esmaceli S. The effect of the yeast probiotic *Saccharomyces boulardii* on acute diarrhea in children. *Journal of Comprehensive Pediatrics*. 2021;12(4). <https://doi.org/10.5812/commped.117391>
9. Siddiqua A, Ali MS, Ahmed S. Functional properties of germinated and non-germinated cereals: A comparative study. *Bangladesh Journal of Scientific and Industrial Research*. 2019;54(4):383–390. <https://doi.org/10.3329/bjsir.v54i4.44573>
10. Tomasik P, Tomasik P. Probiotics, non-dairy prebiotics and postbiotics in nutrition. *Applied Sciences*. 2020;10(4). <https://doi.org/10.3390/app10041470>
11. Zhi CK, Lani MN, Hamzah Y, Ahmad FT, Ubaidillah NHN. Characterisation of lactic acid bacteria isolated from kefir milk made from dairy and non-dairy sources and their sensory acceptance. *Universiti Malaysia Terengganu Journal of Undergraduate Research*. 2021;3(2):37–50.
12. Aguilar-Toalá JE, Garcia-Varela R, Garcia HS, Mata-Haro V, González-Córdova AF, Vallejo-Cordoba B, *et al.* Postbiotics: An evolving term within the functional foods field. *Trends in Food Science and Technology*. 2018;75:105–114. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2018.03.009>
13. Nwaiwu O, Chikezie P. Suitability of palm wine as a multi-functional beverage. *Encyclopedia*. 2020. <https://doi.org/10.32545/encyclopedia201910.0004.v5>
14. Mbarga MJA, Desobgo SCZ, Tatsadjieu LN, Kavhiza N, Kalisa L. Antagonistic effects of raffia sap with probiotics against pathogenic microorganisms. *Foods and Raw Materials*. 2021;9(1):24–31. <https://doi.org/10.21603/2308-4057-2021-1-24-31>
15. Moradi R, Nosrati R, Zare H, Tahmasebi T, Saderi H, Owlia P. Screening and characterization of *in-vitro* probiotic criteria of *Saccharomyces* and *Kluyveromyces* strains. *Iranian Journal of Microbiology*. 2018;10(2):123–131.
16. Lohith K, Anu Appaiah KA. *In vitro* probiotic characterization of yeasts of food and environmental origin. *International Journal of Probiotics and Prebiotics*. 2014;9(3).
17. Ragavan ML, Das N. Isolation and characterization of potential probiotic yeasts from different sources. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*. 2017;10(4):451–455. <https://doi.org/10.22159/ajpcr.2017.v10i4.17067>
18. Fadda ME, Mossa V, Deplano M, Pisano MB, Cosentino S. In vitro screening of *Kluyveromyces* strains isolated from Fiore Sardo cheese for potential use as probiotics. *LWT*. 2017;75:100–106. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2016.08.020>
19. Surwase SR, Kareppa BM, Patil VV. Acid and bile tolerance of lactic acid bacteria isolated from chicken GIT. *AJANTA*. 2019;8(1):68–72.
20. Hashem M, Hesham AE-L, Alrumman SA, Alamri SA. Production of bioethanol from spoilage date fruits by new osmotolerant yeasts. *International Journal of Agriculture and Biology*. 2017;19(4):825–833. <https://doi.org/10.17957/IJAB/15.0368>
21. Rahmadhani N, Astuti RI, Meryandini A. Substrate utilization of ethanologenic yeasts co-cultivation of *Pichia kudriavzevii* and *Saccharomyces cerevisiae*. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*. 2020;457. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/457/1/012072>
22. Santacroce L, Charitos IA, Bottalico L. A successful history: probiotics and their potential as antimicrobials. *Expert Review of Anti-infective Therapy*. 2019;17(8):635–645. <https://doi.org/10.1080/14787210.2019.1645597>

<https://doi.org/10.21603/2074-9414-2023-4-2468>
<https://elibrary.ru/EWLVDJ>

Обзорная статья
<https://fptt.ru>

Методы экстракции иммуномодуляторов растительного происхождения



О. В. Козлова¹, Н. С. Величкович¹,
Е. Р. Фасхутдинова^{1,*}, О. А. Неверова¹, А. Н. Петров²

¹ Кемеровский государственный университет^{ROR}, Кемерово, Россия

² Российский биотехнологический университет^{ROR}, Москва, Россия

Поступила в редакцию: 31.05.2023

Принята после рецензирования: 26.06.2023

Принята к публикации: 04.07.2023

*Е. Р. Фасхутдинова: faskhutdinovae.98@mail.ru,
<https://orcid.org/0000-0001-9711-2145>

О. В. Козлова: <https://orcid.org/0000-0002-2960-0216>

Н. С. Величкович: <https://orcid.org/0000-0002-9061-1256>

О. А. Неверова: <https://orcid.org/0000-0001-7921-0569>

А. Н. Петров: <https://orcid.org/0000-0001-9879-482X>

© О. В. Козлова, Н. С. Величкович,

Е. Р. Фасхутдинова, О. А. Неверова, А. Н. Петров, 2023



Аннотация.

Воздействие вредных факторов на иммунную систему человека может провоцировать развитие различных заболеваний. Для поддержания нормального функционирования иммунной системы разработаны особые вещества – иммуномодуляторы. Перспективными иммуномодуляторами являются биологически активные вещества (БАВ) лекарственных растений, для извлечения которых используется метод экстракции. Цель работы – обзор методов экстрагирования БАВ-иммуномодуляторов из растительного сырья.

Объектом исследования являлись научные и обзорные статьи по теме исследования, опубликованные с 2019 по 2023 гг. и индексируемые в российских и зарубежных базах данных Scopus, Web of Science и eLIBRARY.RU. Поиск осуществлялся на английском и русском языках.

Эффективность процесса экстракции зависит от множества факторов: выбора растворителя, температуры и размера частиц. Ключевую роль играет выбор метода экстракции. К традиционным методам экстракции относят перколяцию, мацерацию, экстракцию Сокслета, экстракцию тепловым рефлюксом и отвар; они характеризуются большим расходом растворителя, высокой стоимостью процесса и т. д. Для устранения недостатков традиционных методов разработаны современные методы экстракции – сверхкритическая экстракция, экстракция под действием микроволн, ультразвуковая экстракция и экстракция под давлением. Для извлечения БАВ из женьшеня настоящего (*Panax ginseng*) в научных работах используются современные методы экстракции, из люцерны посевной (*Medicago sativa*) – экстракция углекислым газом. Также этот метод применяют для выделения полифенола кверцетина из плодов айвы (*Cydonia oblonga*). Мацерацию с растворителем метанолом используют для получения экстрактов из таволги вязолистой (*Filipendula ulmaria*). Экстракцию Сокслета применяют для извлечения БАВ из скумпии кожевенной (*Cotinus coggygria*), пальчатокоренника пятнистого (*Dactylorhiza maculata*) и любки зеленоцветной (*Platanthera chlorantha*).

Традиционные и современные методы экстракции находят свое применение и активно используются для получения экстрактов растений, содержащих биологически активные вещества иммуномодулирующего действия.

Ключевые слова. Лекарственные растения, биологически активные вещества, иммуномодуляторы, экстракция, методы экстракции, растворитель

Финансирование. Исследование выполнено при финансовой поддержке Российского научного фонда (РНФ)^{ROR}, грант № 23-16-00113.

Для цитирования: Методы экстракции иммуномодуляторов растительного происхождения / О. В. Козлова [и др.] // Техника и технология пищевых производств. 2023. Т. 53. № 4. С. 680–688. <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2023-4-2468>

Methods for Extracting Immune-Response Modulating Agents of Plant Origin



Oksana V. Kozlova¹, Natalia S. Velichkovich¹,
Elizaveta R. Faskhutdinova^{1,*}, Olga A. Neverova¹,
Andrey N. Petrov²

¹ Kemerovo State University^{ROR}, Kemerovo, Russia

² Russian Biotechnological University^{ROR}, Moscow, Russia

Received: 31.05.2023

Revised: 26.06.2023

Accepted: 04.07.2023

* Elizaveta R. Faskhutdinova: faskhutdinovae.98@mail.ru,

<https://orcid.org/0000-0001-9711-2145>

Oksana V. Kozlova: <https://orcid.org/0000-0002-2960-0216>

Natalia S. Velichkovich: <https://orcid.org/0000-0002-9061-1256>

Olga A. Neverova: <https://orcid.org/0000-0001-7921-0569>

Andrey N. Petrov: <https://orcid.org/0000-0001-9879-482X>

© O.V. Kozlova, N.S. Velichkovich, E.R. Faskhutdinova,

O.A. Neverova, A.N. Petrov, 2023



Abstract.

Numerous adverse factors may violate the human immune system and trigger various diseases. Immune-response modulating agents, or immunomodulators, help the immune system to function properly. Biologically active substances extracted from medicinal plants are especially promising in this respect. The article reviews traditional and novel methods for extracting biologically active immune-response modulating agents from plant raw materials.

The review covered articles published in English and Russian in 2019–2023 and indexed in Scopus, Web of Science, and eLIBRARY.

Extraction efficiency depends on such factors as solvent, temperature, and particle size, but the method is the most important one. Traditional extraction methods include percolation, maceration, Soxhlet extraction, heat reflux extraction, and decoction. However, they are solvent-consuming and expensive. Modern extraction methods rely on carbon dioxide, microwave treatment, ultrasonic processing, and pressure. They proved quite efficient in extracting biologically active substances from ginseng (*Panax ginseng*). Carbon dioxide, or supercritical, extraction was able to isolate polyphenol quercetin from quince fruit (*Cydonia oblonga*) and other biologically active substances from alfalfa (*Medicago sativa*). Maceration with methanol was applied to meadowsweet (*Filipendula ulmaria*) while Soxhlet extraction proved especially effective with smoke tree (*Cotinus coggygria*), moorland spotted orchid (*Dactylorhiza maculata*), and greater butterfly-orchid (*Platanthera chlorantha*).

Both traditional and novel extraction methods find their application in medicine and food science, where they yield plant extracts of biologically active immune-response modulating agents.

Keywords. Medicinal plants, biologically active substances, immune-response modulating agents, extraction, extraction methods, solvent

Funding. This research was funded by the Russian Science Foundation (RSF)^{ROR}, grant No. 23-16-00113.

For citation: Kozlova OV, Velichkovich NS, Faskhutdinova ER, Neverova OA, Petrov AN. Methods for Extracting Immune-Response Modulating Agents of Plant Origin. Food Processing: Techniques and Technology. 2023;53(4):680–688. (In Russ.). <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2023-4-2468>

Введение

В повседневной жизни человек рискует оказаться под воздействием вредных факторов и загрязнителей окружающей среды, которые влияют на состояние здоровья и гомеостаз организма. Иммунная система (ИС) представляет собой сложную интегрированную сеть клеток, тканей, органов и растворимых медиаторов, которые эволюциони-

ровали для защиты организма от чужеродного воздействия, угрожающего его целостности. Одной из ключевых особенностей иммунной системы является ее способность различать собственные клетки/ткани и чужеродные молекулы/микробы окружающей среды [1].

Иммунная система включает в себя множество типов клеток, тканей и органов. Наиболее распрост-

раненными являются фагоцитарные клетки (моноциты, макрофаги и нейтрофилы), которые способны поглощать и переваривать болезнетворные микроорганизмы и чужеродные молекулы [2]. Лимфоциты – вторые по распространенности клетки иммунной системы – играют важную роль в нормальном иммунном ответе на инфекцию и опухоли, а также в опосредовании отторжения трансплантата и аутоиммунитета [3]. Их можно разделить на два разных типа – Т- и В-клетки. Все иммунные клетки возникают из обычных гемопоэтических стволовых клеток в костном мозге после кроветворения.

Иммунный ответ подразделяется на врожденный и адаптивный, охватывающий различные и специфические роли в ответах иммунной защиты. Врожденная иммунная система не обеспечивает полную защиту от некоторых заболеваний (например, инсульта) и не обладает долговременной памятью [4]. Эта система включает фагоцитарные клетки, систему комплемента и различные классы рецепторов, используемых врожденными клетками. Например, толл-подобные рецепторы (TLR), которые способны обнаруживать консервативные патоген-ассоциированные молекулярные паттерны (РАМР), такие как компоненты клеточной стенки бактерий и грибов (т. е. липополисахариды, бактериальные липопептиды и β -глюканы). Адаптивный иммунный ответ представляет собой антиген-специфическую систему, включающую долгоживущие лимфоциты (клетки памяти) и их узкоспециализированные рецепторы [5].

Несмотря на свою высокую эффективность и специфичность, дисбаланс иммунных реакций может быть причиной множества заболеваний, таких как аллергия, аутоиммунные заболевания, иммуносупрессия и СПИД [6]. Эпидемиологические данные свидетельствуют о росте числа иммунологических заболеваний [7]. Эта проблема привела к разработке особого класса молекул – иммуномодуляторов, способных усиливать или подавлять иммунный ответ при ИС-опосредованных заболеваниях. В то время как иммуностимулирующие препараты были разработаны из-за их потенциального применения к инфекции, иммунодефициту и раку, иммунодепрессанты используются для ингибирования иммунного ответа при иммуноопосредованных заболеваниях. Например, при трансплантации органов и аутоиммунных заболеваниях.

Среди исследователей существует спрос на новые эффективные методы лечения. Одной из перспективных стратегий является использование растительных лекарственных средств в качестве интегративной, дополнительной и профилактической терапии [1, 8–10]. Фитохимические вещества и активные компоненты лекарственных растений всегда были важным источником клинической терапии. Изучение их молекулярной фармакологии является проблемой, поскольку предлагается большое химическое разнообразие

биологически активных веществ (БАВ) с мультифармакологической активностью.

Фитохимические вещества используются в народной медицине из-за своих свойств и пользы для здоровья, т. к. обладают фармакологической или биологической активностью, которую можно применить при открытии фармацевтических препаратов и разработке лекарств [11]. Лекарственные растения могут стать альтернативой консервативной химиотерапии при различных заболеваниях, особенно когда необходимо стимулировать механизм защиты хозяина в ситуациях ослабленного иммунного ответа или при аутоиммунных расстройствах [12]. Наиболее распространенными иммуномодуляторами растительного происхождения являются полисахариды, полифенолы и неопределенные дикарбоновые кислоты.

Целью данной работы являлся обзор методов экстрагирования БАВ-иммуномодуляторов из растительного сырья.

Объекты и методы исследования

Выполнили аналитический обзор 49 научных литературных источников на русском и английском языках. Поиск был ограничен рецензируемыми статьями в академических журналах и включал исследовательские и обзорные статьи, которые соответствовали тематике исследования. В обзор не включались материалы конференций и др. Поиск осуществлялся в базах данных Scopus, Web of Science и eLIBRARY.RU.

Результаты и их обсуждение

Методы экстракции. Основной стадией получения БАВ является экстракция, которая основана на их извлечении из клеток растений, животных или микроорганизмов в различные растворители [13]. Данный процесс происходит из-за процесса диффузии, происходящего за счет разности концентраций. После достижения равных концентраций данный процесс прекращается. Процесс подчиняется закону Фика, который описывает процесс молекулярной диффузии и устанавливает связь между плотностью диффузионного потока и градиентом концентраций [14].

На процесс экстракции влияет ряд факторов. Во-первых, вид растворителя. Выбор растворителя зависит от типа растительного сырья, части растения, подлежащего экстракции, и природы целевых биологически активных веществ. Полярные растворители, такие как вода, метанол и этанол (полифенолы), используются для экстракции полярного соединения, тогда как неполярные растворители, такие как гексан, дихлорметан и ацетон, используются для экстракции неполярных соединений (липиды и масла) [15, 16]. Выбор растворителей должен основываться на его стоимости и безопасности.

Во-вторых, размер частиц. Чем меньше размер частиц, тем выше эффективность экстракции за счет

более глубокого проникновения экстрагента. Однако если частицы имеют слишком маленький размер, то процесс фильтрации полученных экстрактов будет затруднен из-за абсорбции растворенных веществ [17].

В-третьих, температура. Процесс экстракции чаще всего проводится при повышенных температурных условиях из-за увеличения степени диффузии и растворения веществ [18]. Оптимальным диапазоном для проведения экстракции БАВ является 40–80 °С. Более высокие температуры могут стать причиной потери растворителя (снижение экономической эффективности процесса), образования примесей (что ведет к применению дополнительных методов очистки целевых БАВ) и разложения нетермоустойчивых соединений [19].

Методы экстракции можно разделить на 2 большие группы: традиционные и современные. Традиционными методами экстракции являются перколяция, мацерация, экстракция Сокслета, экстракция тепловым рефлюксом и отвар.

Для получения отвара отобранное сырье кипятят в определенном объеме воды в течение конкретного времени и охлаждают, затем процеживают или фильтруют. Начальное соотношение сырого продукта к воде является фиксированным. Например, 1:4 или 1:16. Объем доводится до 1/4 от первоначального путем кипячения. Затем концентрированный экстракт фильтруют и подвергают дальнейшей обработке. Отвар подходит для извлечения термостабильных соединений из твердых частей растений, таких как корни и кора, в результате чего получается больше маслорастворимых фитохимических веществ по сравнению с мацерацией [20, 21]. Недостатком данного метода является недопустимость его применения для извлечения летучих и термолабильных БАВ, а также большой расход растворителя [22].

Метод мацерации заключается в замачивании растительного сырья. Для извлечения БАВ образец растения измельчают в порошок и смешивают с растворителем. Затем смесь оставляют в экстракционном сосуде, периодически перемешивая. В процессе перемешивания происходит отделение концентрированного раствора от поверхности исследуемого образца при добавлении нового растворителя для улавливания выхода экстракции [23]. После завершения процесса жидкость фильтруют, а остаток прессуют механическим прессом или центрифугируют, чтобы повторить экстракцию новым растворителем до тех пор, пока растворитель не станет бесцветным [24]. Преимущества метода мацерации заключаются в низкой стоимости, простоте исполнения и отсутствии необходимости нагрева для экстракции, что может привести к повреждению биологически активных соединений, а также в том, что он подходит для экстракции термолабильных соединений. Однако для получения высококачественного

экстракта требуется оптимальное время экстракции, соотношение масса:растворитель, температура, тип и комбинация растворителей, подходящих для экстракции целевых БАВ [25]. Недостаток мацерации заключается в длительности процесса, которая может достигать 3-х суток, а также в большом расходе растворителя.

Перколяция – один из самых популярных способов экстракции, при котором активные вещества извлекаются из растений с помощью растворителя в противотоке. Данный процесс осуществляется в специальных конусообразных установках – перколяторах. Это открытые с обоих концов сосуды с запорным краном у основания, который контролирует скорость элюирования растворителя [26]. Перколяция состоит из трех этапов: смачивание, замачивание сырья и последующие просачивание экстрагента. Смачивание проводят в течение 4–5 ч с использованием половины или равного количества экстрагента. В процессе замачивания сырье набухает и становится более доступным для проникновения экстрагента. Кроме того, в клетках сырья образуется концентрированный раствор экстрагированных соединений. Стадия замачивания длится 24–48 ч. В процессе просачивания растворитель, обычно этиловый спирт, медленно проходит через растительный материал, постепенно упаковываясь фитохимическими веществами, и продвигается вниз другим растворителем, добавленным сверху. Перед введением растительного материала в перколятор его необходимо тщательно измельчить. Однако если частицы будут слишком мелкими, то это усложнит их отделение от экстракционного растворителя. Следовательно, экстракт будет мутным, а остатки осядут на дне перколятора. Целесообразно увлажнять растительную матрицу экстракционным растворителем, что позволяет растительным клеткам удлиняться для плавной диффузии фитохимических веществ в экстракционный растворитель. После того как растительный материал вставлен в перколятор, экстракционный растворитель заливается сверху и просачивается через растительный материал со скоростью, определяемой природой растительного материала, подвергшегося экстракции. Скорость потока растворителя не должна быть чрезмерной, чтобы дать время для проникновения растворителя в растительные клетки и извлечения составляющих фитохимических веществ. Тем не менее скорость перколяции растворителя не должна быть слишком низкой, т. к. это приведет к большому расходу растворителя для полной экстракции. Как правило, для 1 кг растительного сырья скорость потока растворителя должна составлять около 5 мл в минуту. После завершения процесса растительный материал прессуют для восстановления растворителя, поглощенного остаточным, и остаточный раствор добавляют в фильтрат (экстракт). Экстракция заканчивается

вымыванием из перколятора бесцветной жидкости, лишенной фитохимических веществ.

Перколяция более эффективна, чем мацерация, т. к. скорость внутренней диффузии остается высокой из-за просачивающегося экстрагента. Однако у этого метода есть недостатки: большой расход растворителя и строгое соблюдение размера частиц растительного сырья [27].

Для экстракции Сокслета используются растворители (дихлорметан), которые можно смешивать с ацетоном или гексаном, в то время как неполярные растворители практически не применяются [28]. Экстракция Сокслета или непрерывная экстракция представляет собой метод, используемый для отделения соединений от твердых материалов. Экстрактор Сокслета применяется в фармакогнозии и экстракции фитонутриентов и фармакологических биологически активных соединений. Аппарат Сокслета состоит из колбы с круглым дном, лекарственной камеры, пара, сифонной трубки, конденсаторного блока и водопроводной трубы [29]. Образцы растений помещают в наперсток или пористый мешок (из целлюлозы), заполняют конденсированными неполярными растворителями (гексаном, эфиром и петролевым эфиром) и помещают в дистилляционную колбу. Растворители испаряются в наперсток и конденсируются в конденсатор при нагревании. Когда уровень растворителя повышается, то он поступает в колбу с круглым дном через сифонную трубку. Этот процесс повторяется до тех пор, пока растворитель не сконцентрируется. По сравнению с мацерацией или перколяцией данный метод представляет собой непрерывный автоматизированный процесс экстракции с высокой эффективностью, который требует меньше времени и растворителя. Однако у экстракции Сокслета есть недостатки: высокое потребление энергии/растворителя, длительное время экстракции и сниженная пропускная способность образца.

Несмотря на преимущества и распространенность традиционных методов экстракции БАВ, наличие недостатков привело к разработке современных методов – более эффективных, экономичных и безопасных. К современным методам экстракции относят сверхкритическую экстракцию, экстракцию под действием микроволн, ультразвуковую экстракцию и экстракцию под давлением [30, 31].

Сверхкритическая экстракция основана на применении особого растворителя – углекислого газа. Данный выбор основан на том, что привычные органические и углеводородные растворители обладают недостатками, которые ограничивают их применение (высокая температура кипения, низкая вязкость, высокая стоимость, образование азеотропов, высокая вероятность воспламенения и др.), а углекислый газ не имеет цвета и запаха, негорючий и нетоксичный [32–34]. Благодаря этому использование углекислого газа безопасно и дешево. Хотя диоксид

углерода является предпочтительной жидкостью для сверхкритической экстракции, он обладает рядом ограничений по полярности, поэтому часто к нему добавляются со-растворители.

Сверхкритическая экстракция проходит следующим образом. Отобранное сырье помещается в сосуды для экстракции, которые поддерживаются при постоянной температуре и давлении. Затем экстрактор заполняется жидкостью через насос. После того как жидкость и химические вещества растворены, их разделяют с помощью сепаратора твердой фазы. Экстракция имеет две стадии: саму экстракцию (из твердого сырья) и отделение от сверхкритического растворителя. Сначала растворитель заливается в экстракционные сосуды (насос растворителя и теплообменник) и равномерно распределяется по всему неподвижному слою, образованному твердым субстратом. Растворитель взаимодействует с растворимыми компонентами в процессе экстракции. В испарительных резервуарах комбинация растворенного вещества и растворителя отделяется путем быстрого снижения давления или повышения температуры жидкостей. Растворители должны быть охлаждены и повторно сжаты компрессором перед возвратом в экстрактор [29].

Данный метод экстракции обладает таким преимуществом, как возможность экстрагирования компонентов при низкой температуре. Это уменьшает вред от воздействия тепла и некоторых органических растворителей. Также при экстракции отсутствуют остатки растворителя, процедура безвредна для окружающей среды.

Экстракция под давлением основана на воздействии давления на растворители при высоких температурах (ниже их критической точки) [35]. Как правило, диапазон температур составляет 50–200 °C, давления – 3,5–20 МПа. Данный метод обладает высокой скоростью экстракции и не требует большого объема растворителя по сравнению с традиционными методами экстракции [36, 37]. Кроме того, повышенная скорость массопереноса увеличивает растворимость анализируемого вещества и снижает вязкость растворителя и поверхностное натяжение, возникающие в условиях экстракции под давлением. В результате растворитель легче проникает в матрицу, достигая более глубоких участков и увеличивая поверхностный контакт. Это улучшает массоперенос к растворителю и облегчает скорость экстракции. Возможность автоматизации является еще одним преимуществом, поскольку она помогает уменьшить колебания от добычи к экстракции, улучшая воспроизводимость. Несмотря на данные преимущества, метод не подходит для термолабильных соединений, чувствительных к высокой температуре и давлению.

Ультразвуковая экстракция включает взаимодействие ультразвуковой мощности и растворителей для извлечения целевых биологически активных

компонентов из растительной биомассы [38]. В данном процессе участвуют волны, которые имеют частоту от 20 кГц до 10 МГц [39]. Применение ультразвука позволило повысить выход биоактивных веществ по сравнению с традиционными методами экстракции. Ультразвуковые волны, состоящие из сжатия и разрежения, приводят к смещению молекул из их первоначального положения. При звуковых волнах более высокой интенсивности сила притяжения доминирует над притяжением, что приводит к образованию кавитационных пузырьков, которые растут в результате слияния и разрушаются во время фазы сжатия, что приводит к образованию горячей точки [40]. С другой стороны, ультразвуковая инкапсуляция, которая устанавливается путем эмульгирования, зависит от эффективности кавитационного механизма. Ультразвуковое оборудование способствует кавитации, при которой пузырьки схлопываются на границе раздела обеих несмешивающихся жидкостей. Материал, подлежащий обработке ультразвуком, может быть подвергнут либо прямой, либо косвенной ультразвуковой обработке. Термин «прямая обработка» относится к прямому введению ультразвукового зонда в жидкую среду. Ультразвуковой зонд состоит из зонда или рупора, подключенного к преобразователю. Этот метод подходит для извлечения активных веществ либо из растений, либо из побочных продуктов переработки. Диаметр зонда является фактором, влияющим на эффективность ультразвукового аппарата. Как правило, зонды меньшего диаметра дают больший кавитационный эффект, но в узком поле, а зонды большего диаметра распределяют энергию на более широкую площадь. Основным недостатком этого метода является потенциальное загрязнение металла съемными металлическими фрагментами зонда. Ультразвуковые ванны, которые являются примером «непрямого применения», более экономичны и просты в обращении, но не являются мощным оборудованием. Следовательно, их потенциальное применение ограничено [41]. Кроме того, неравномерное распределение энергии снижает эффективность работы по сравнению с зондовой системой.

Применение различных методов экстракции для извлечения БАВ из растительного сырья. Методы экстракции широко применяются для получения БАВ, обладающих иммуномодулирующим действием. Такими соединениями богат женьшень настоящий (*Panax ginseng*). Гизенозиды, относящиеся к классу сапонинов, обладают иммуномодулирующим действием. Для выделения данных БАВ используются различные методы экстракции. В работе Q. Liang и др. для извлечения 8 гизенозидов из цветочных почек женьшеня использовался метод ультразвуковой экстракции [42]. Оптимальными параметрами экстракции были ультразвуковое время – 23 мин, температура экстракции – 30 °С, соотношение растворитель:сырье – 31:1. Эффективность экстракции

составила 64,53 %. В другой работе показано, что для извлечения гизенозидов из *P. ginseng* допустимо применять докритическую водную экстракцию с оптимальными условиями экстракции 200 °С и 20 мин [43]. Обнаружено, что при экстрагировании в течение более 20 мин снижается выход БАВ из-за разложения и уменьшается эффективность самого процесса. В работе I.-К. Mok и др. для извлечения гизенозидов использовалась многоступенчатая экстракция, состоящая из высокого гидростатического давления, ферментативного гидролиза и обработки ультразвуком, что привело к увеличению выхода БАВ на 25 % [44]. Иммуномодулирующей активностью обладают полисахариды, обнаруженные в женьшене. Согласно работе J.-L. Zhao и др. микроволновая экстракция полисахаридов увеличила выход целевых БАВ по сравнению с традиционными методами экстракции ($41,60 \pm 0,09$ и $28,50 \pm 1,62$ %) [45].

Полифенол кверцетин обладает фармакологической активностью и содержится во многих растениях. V. Pilařová с соавторами установила, что для выделения кверцетина из плодов айвы (*Cydonia oblonga*) можно использовать экстракцию углекислым газом [46]. Наилучший выход экстракции получен при соотношении растворителей CO₂:этанол:H₂O 10:81:9, температуре 66 °С и давлении 22,3 МПа.

Сверхкритическая экстракция применялась при получении БАВ из люцерны посевной (*Medicago sativa*). Исследование O. Wrona и др. посвящено получению полифенольных соединений из этого растения. Авторы установили, что экстракция CO₂ является подходящим методом экстракции для выделения флавоноидов (нарингенина и апингенина) и таких фенольных кислот, как феруловая и салициловая, обладающих иммуномодулирующим эффектом [47].

Иммуномодулирующим действием обладают экстракты таволги вязолистой (*Filipendula ulmaria*). J. Cholet и др. установили, что метанольный экстракт надземной части *F. ulmaria*, полученный путем трехкратной мацерации в метаноле в течение 24 ч, обладает иммуностимулирующим действием [48].

S. Sukhikh с соавторами изучали химический состав и содержание БАВ в таких лекарственных растениях, как скумпия кожевническая (*Cotinus coggygria*), пальчатокоренник пятнистый (*Dactylorhiza maculata*) и любка зелёноцветная (*Platanthera chlorantha*) [49]. Авторы использовали экстракты, полученные на аппарате Сокслета с применением в качестве экстрагента 70 %-го этанола. Установлено, что среди биологически активных веществ в рассматриваемых растениях преобладают гиперозид, рутин (*C. coggygria*), феруловая и галловая кислоты (*D. maculata*), триеновый углеводород (3,7-диметил-1,3,6-октатриен), ненасыщенный спирт (3,7-диметил-2,6-октадиен-1-ол) и бензилацетат (*P. chlorantha*). Образцы этих лекарственных растений

содержали микроэлементы (фосфор, калий, кальций, натрий, магний, серу) и алифатические органические кислоты (янтарная, бензойная, фумаровая, лимонная, щавелевая, винная). Это свидетельствует о биологической активности экстрактов, полученных вышеуказанным методом.

Выводы

Иммунная система играет одну из ключевых ролей в здоровье человека, защищая организм от воздействия, угрожающего его целостности. Нарушение функционирования данной системы может стать причиной множества заболеваний. Поэтому необходима разработка особых препаратов, способных корректировать деятельность иммунной системы – иммуномодуляторов. Растительное сырье является перспективным источником БАВ, обладающих иммуномодулирующими свойствами и способных влиять на иммунную систему.

Для получения целевых веществ из растений используется метод экстракции, который основан на извлечении БАВ из клеток в растворители. На эффективность экстракции влияет множество факторов: выбор растворителя, температура и размер частиц. Однако одну из главных ролей играет метод экстракции. К традиционным методам экстракции относятся перколяция, мацерация, экстракция Сокслета, экстракция тепловым рефлюксом и отвар. Недостатки вышеперечисленных методов привели к разработке современных методов экстракции: сверхкритической экстракции, экстракции под действием микроволн, ультразвуковой экстракции и экстракции под давлением.

Вышеперечисленные методы используются для получения экстрактов растений, обладающих им-

муномодулирующими свойствами. Для извлечения БАВ из женьшеня настоящего (*Panax ginseng*) в различных научных работах используются ультразвуковая и докритическая водная экстракция, экстракция под давлением и микроволновая экстракция. Для выделения полифенола кверцетина из плодов айвы (*Cydonia oblonga*) и извлечения БАВ из люцерны посевной (*Medicago sativa*) используется экстракция углекислым газом. Традиционный метод мацерации применяют для получения метанольных экстрактов из таволги вязолистой (*Filipendula ulmaria*). Экстракцию Сокслета применяют для извлечения иммуномодуляторов из скумпии кожевенной (*Cotinus coggygria*), пальчатокоренника пятнистого (*Dactylorhiza maculata*) и любки зелёноцветной (*Platanthera chlorantha*).

Таким образом, традиционные и современные методы экстракции находят свое применение для получения экстрактов, содержащих БАВ, которые обладают иммуномодулирующими свойствами.

Критерии авторства

Авторы в равной степени участвовали в написании рукописи и несут равную ответственность за плагиат.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Contribution

The authors were equally involved in writing the manuscript and are equally responsible for plagiarism.

Conflict of interest

The authors declare no conflict of interest.

References/Список литературы

1. Catanzaro M, Corsini E, Rosini M, Racchi M, Lanni C. Immunomodulators inspired by nature: A review on Curcumin and Echinacea. *Molecules*. 2018;23(11). <https://doi.org/10.3390/molecules23112778>
2. Davies LC, Rice CM, McVicar DW, Weiss JM. Diversity and environmental adaptation of phagocytic cell metabolism. *Journal of Leukocyte Biology*. 2019;105(1):37–48. <https://doi.org/10.1002/JLB.4RI0518-195R>
3. Xia S, Chen Q, Niu B. CD28: A new drug target for immune disease. *Current Drug Targets*. 2020;21(6):589–598. <https://doi.org/10.2174/1389450120666191114102830>
4. Qiu Y, Tu G, Ju M, Yang C, Luo Z. The immune system regulation in sepsis: From innate to adaptive. *Current Protein and Peptide Science*. 2019;20(8):799–816. <https://doi.org/10.2174/1389203720666190305164128>
5. Brillantes M, Beaulieu AM. Transcriptional control of natural killer cell differentiation. *Immunology*. 2019;156(2):111–119. <https://doi.org/10.1111/imm.13017>
6. Benagiano M, Bianchi P, D’Elios MM, Brosens I, Benagiano G. Autoimmune diseases: Role of steroid hormones. *Best Practice and Research Clinical Obstetrics and Gynaecology*. 2019;60:24–34. <https://doi.org/10.1016/j.bpobgyn.2019.03.001>
7. Koloski N, Jones M, Walker MM, Veysey M, Zala A, Keely S, et al. Population based study: Atopy and autoimmune diseases are associated with functional dyspepsia and irritable bowel syndrome, independent of psychological distress. *Alimentary Pharmacology and Therapeutics*. 2019;49(5):546–555. <https://doi.org/10.1111/apt.15120>
8. Dyshlyuk LS, Fedorova AM, Loseva AI, Eremeeva NI. Callus cultures of *Thymus vulgaris* and *Trifolium pratense* as a source of geroprotectors. *Food Processing: Techniques and Technology*. 2021;51(2):423–432. <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2021-2-423-432>

9. Akharaiyi FC, Ehis-Eriakha CB, Olagbemide PT, Igbudu FH. *Hyptis suaveolens* L. leaf extracts in traditional health care systems. *Foods and Raw Materials*. 2023;11(2):293–299. <https://doi.org/10.21603/2308-4057-2023-2-577>
10. Milentyeva IS, Le VM, Kozlova OV, Velichkovich NS, Fedorova AM, Loseva AI, *et al.* Secondary metabolites in *in vitro* cultures of Siberian medicinal plants: Content, antioxidant properties, and antimicrobial characteristics. *Foods and Raw Materials*. 2021;9(1):153–163. <https://doi.org/10.21603/2308-4057-2021-1-153-163>
11. Nilius B, Appendino G. Spices: The savory and beneficial science of pungency. In: Nilius B, Amara SG, Lill R, Offermanns S, Gudermann T, Petersen OH, *et al.*, editors. *Reviews of physiology, biochemistry and pharmacology*. Vol. 164. Cham: Springer; 2013. pp. 1–76. https://doi.org/10.1007/112_2013_11
12. Porwal O, Ozdemir M, Kala D, Anwer ET. A review on medicinal plants as potential sources of natural immunomodulatory action. *Journal of Drug Delivery and Therapeutics*. 2021;11(6):324–331. <https://doi.org/10.22270/jddt.v11i6.5125>
13. Asyakina LK, Fotina NV, Stepanova AA, Pozdnyakova AV, Prosekov AY. Development of a technology for extraction of a complex of biologically active substances from *in vitro* root crops of medicinal plants. *Storage and Processing of Farm Products*. 2021;(3):95–104. (In Russ.). <https://doi.org/10.36107/spfp.2021.228>
14. Lainez-Cerón E, Ramírez-Corona N, López-Malo A, Franco-Vega A. An overview of mathematical modeling for conventional and intensified processes for extracting essential oils. *Chemical Engineering and Processing – Process Intensification*. 2022;178. <https://doi.org/10.1016/j.cep.2022.109032>
15. Abubakar AR, Haque M. Preparation of medicinal plants: Basic extraction and fractionation procedures for experimental purposes. *Journal of Pharmacy and Bioallied Sciences*. 2020;12(1):1–10. https://doi.org/10.4103/jpbs.JPBS_175_19
16. Rodríguez García SL, Raghavan V. Green extraction techniques from fruit and vegetable waste to obtain bioactive compounds – A review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 2022;62(23):6446–6466. <https://doi.org/10.1080/10408398.2021.1901651>
17. Yan Z, Wang Z, Chen Y, Liu C, Liu Y, Li R, *et al.* Preparation of lignin nanoparticles via ultra-fast microwave-assisted fractionation of lignocellulose using ternary deep eutectic solvents. *Biotechnology and Bioengineering*. 2023;120(6):1557–1568. <https://doi.org/10.1002/bit.28373>
18. Jha AK, Sit N. Extraction of bioactive compounds from plant materials using combination of various novel methods: A review. *Trends in Food Science and Technology*. 2022;119:579–591. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2021.11.019>
19. Antony A, Farid M. Effect of temperatures on polyphenols during extraction. *Applied Sciences*. 2022;12(4). <https://doi.org/10.3390/app12042107>
20. Fonmboh DJ, Abah ER, Fokunang TE, Herve B, Teke GN, Rose NM, *et al.* An overview of methods of extraction, isolation and characterization of natural medicinal plant products in improved traditional medicine research. *Asian Journal of Research in Medical and Pharmaceutical Sciences*. 2020;9(2):31–57. <https://doi.org/10.9734/ajrimps/2020/v9i230152>
21. Nekkaa A, Benaissa A, Mutelet F, Canabady-Rochelle L. *Rhamnus alaternus* plant: Extraction of bioactive fractions and evaluation of their pharmacological and phytochemical properties. *Antioxidants*. 2021;10(2). <https://doi.org/10.3390/antiox10020300>
22. Zhang Q-W, Lin L-G, Ye W-C. Techniques for extraction and isolation of natural products: A comprehensive review. *Chinese Medicine*. 2018;13. <https://doi.org/10.1186/s13020-018-0177-x>
23. Srivastava N, Singh A, Kumari P, Nishad JH, Gautam VS, Yadav M, *et al.* Advances in extraction technologies: isolation and purification of bioactive compounds from biological materials. In: Sinha RP, Häder D-P, editors. *Natural bioactive compounds. Technological advancements*. Academic Press; 2021. pp. 409–433. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-820655-3.00021-5>
24. López-Cruz R, Sandoval-Contreras T, Iñiguez-Moreno M. Plant pigments: Classification, extraction, and challenge of their application in the food industry. *Food and Bioprocess Technology*. 2023. <https://doi.org/10.1007/s11947-023-03075-4>
25. Setford PC, Jeffery DW, Grbin PR, Muhlack RA. Factors affecting extraction and evolution of phenolic compounds during red wine maceration and the role of process modelling. *Trends in Food Science and Technology*. 2017;69:106–117. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2017.09.005>
26. Atienza JJ, Seguí DI, Arcigal R, Bracewell J, Dimasuay M, Bueno PR, *et al.* Specific analytical methods for the extraction of common phytochemical constituents of *Vitex negundo* Linn: A mini-review. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*. 2021;10(5):95–107. <https://doi.org/10.22271/phyto.2021.v10.i5b.14226>
27. Pawar S, Kamble V. Phytochemical screening, elemental and function group analysis of *Vitex negundo* L. leaves. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*. 2017;9(6):226–230. <https://doi.org/10.22159/ijpps.2017v9i6.18093>
28. Kapadia P, Newell AS, Cunningham J, Roberts MR, Hardy JG. Extraction of high-value chemicals from plants for technical and medical applications. *International Journal of Molecular Sciences*. 2022;23(18). <https://doi.org/10.3390/ijms231810334>
29. Khongthaw B, Chauhan PK, Dulta K, Kumar V, Ighalo JO. A comparison of conventional and novel phytonutrient extraction techniques from various sources and their potential applications. *Journal of Food Measurement and Characterization*. 2023;17:1317–1342. <https://doi.org/10.1007/s11694-022-01697-4>

30. Belokurov SS, Narkevich IA, Flisyuk EV, Kaukhova IE, Aroyan MV. Modern extraction methods for medicinal plant raw material (review). *Pharmaceutical Chemistry Journal*. 2019;53(6):559–563. <https://doi.org/10.1007/s11094-019-02037-5>
31. Duy LX, Toan TQ, Anh DV, Hung NP, Huong TTT, Long PQ, et al. Optimization of canthaxanthin extraction from fermented biomass of *Paracoccus carotinifaciens* 20181 VTP bacteria strain isolated in Vietnam. *Foods and Raw Materials*. 2021;9(1):117–125. <https://doi.org/10.21603/2308-4057-2021-1-117-125>
32. Dhara O, Prasanna Rani KP, Chakrabarti PP. Supercritical carbon dioxide extraction of vegetable oils: Retrospective and prospects. *European Journal of Lipid Science and Technology*. 2022;124(8). <https://doi.org/10.1002/ejlt.202200006>
33. Zakharenko AM, Kirichenko KYu, Vakhniuk IA, Golokhvast KS. Supercritical extraction technology of obtaining polyunsaturated acids from starfish (*Lysastrosoma anthosticta* Fisher, 1922). *Food Processing: Techniques and Technology*. 2021;51(4):753–758. <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2021-4-753-758>
34. Prosekov AYU. Interfacial surface phenomena in the production of dispersed products with a foam structure: A review. *Storage and Processing of Farm Products*. 2001;(8):24–27. (In Russ.). [Просеков А. Ю. Роль межфазных поверхностных явлений в производстве дисперсных продуктов с пенной структурой (обзор) // Хранение и переработка сельхозсырья. 2001. № 8. С. 24–27.]. <https://elibrary.ru/YRXYBY>
35. Quitério E, Grosso C, Ferraz R, Delerue-Matos C, Soares C. A critical comparison of the advanced extraction techniques applied to obtain health-promoting compounds from seaweeds. *Marine Drugs*. 2022;20(11). <https://doi.org/10.3390/md20110677>
36. Hu J, Guo Z, Glasius M, Kristensen K, Xiao L, Xu X. Pressurized liquid extraction of ginger (*Zingiber officinale* Roscoe) with bioethanol: An efficient and sustainable approach. *Journal of Chromatography A*. 2011;1218(34):5765–5773. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2011.06.088>
37. Hafizov SG, Musina ON, Hafizov GK. Extracting hydrophilic components from pomegranate peel and pulp. *Food Processing: Techniques and Technology*. 2023;53(1):168–182. (In Russ.). <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2023-1-2425>
38. Mehta N, Jeyapriya S, Kumar P, Verma AK, Umaraw P, Khatkar SK, et al. Ultrasound-assisted extraction and the encapsulation of bioactive components for food applications. *Foods*. 2022;11(19). <https://doi.org/10.3390/foods11192973>
39. Carreira-Casais A, Otero P, Garcia-Perez P, Garcia-Oliveira P, Pereira AG, Carpena M, et al. Benefits and drawbacks of ultrasound-assisted extraction for the recovery of bioactive compounds from marine algae. *International Journal of Environmental Research and Public Health*. 2021;18(17). <https://doi.org/10.3390/ijerph18179153>
40. Gao Y, Wang S, Dang S, Han S, Yun C, Wang W, et al. Optimized ultrasound-assisted extraction of total polyphenols from *Empetrum nigrum* and its bioactivities. *Journal of Chromatography B*. 2021;1173. <https://doi.org/10.1016/j.jchromb.2021.122699>
41. Astráin-Redín L, Ciudad-Hidalgo S, Raso J, Condón S, Cebrián G, Álvarez I. Application of high-power ultrasound in the food industry. In: Karakuş S, editor. *Sonochemical reactions*. IntechOpen; 2019. <https://doi.org/10.5772/intechopen.90444>
42. Liang Q, Zhang J, Su X, Meng Q, Dou J. Extraction and separation of eight ginsenosides from flower buds of *Panax ginseng* using aqueous ionic liquid-based ultrasonic-assisted extraction coupled with an aqueous biphasic system. *Molecules*. 2019;24(4). <https://doi.org/10.3390/molecules24040778>
43. Lee J-H, Ko M-J, Chung M-S. Subcritical water extraction of bioactive components from red ginseng (*Panax ginseng* C.A. Meyer). *The Journal of Supercritical Fluids*. 2018;133:177–183. <https://doi.org/10.1016/j.supflu.2017.09.029>
44. Mok I-K, Jung H, Kim H, Kim D. Biotransformation of ginsenosides from Korean wild-simulated ginseng (*Panax ginseng* C.A. Mey.) using the combination of high hydrostatic pressure, enzymatic hydrolysis, and sonication. *Food Bioscience*. 2023;53. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2023.102687>
45. Zhao J-L, Zhang M, Zhou H-L. Microwave-assisted extraction, purification, partial characterization, and bioactivity of polysaccharides from *Panax ginseng*. *Molecules*. 2019;24(8). <https://doi.org/10.3390/molecules24081605>
46. Pilařová V, Kuda L, Vlčková HK, Nováková L, Gupta S, Kulkarni M, et al. Carbon dioxide expanded liquid: an effective solvent for the extraction of quercetin from South African medicinal plants. *Plant Methods*. 2022;18. <https://doi.org/10.1186/s13007-022-00919-6>
47. Wrona O, Rafińska K, Walczak-Skierska J, Możejński C, Buszewski B. Extraction and determination of polar bioactive compounds from alfalfa (*Medicago sativa* L.) using supercritical techniques. *Molecules*. 2019;24(24). <https://doi.org/10.3390/molecules24244608>
48. Cholet J, Decombat C, Vareille-Delarbre M, Gainche M, Berry A, Ogéron C, et al. Comparison of the anti-inflammatory and immunomodulatory mechanisms of two medicinal herbs: Meadowsweet (*Filipendula ulmaria*) and harpagophytum (*Harpagophytum procumbens*). *International Journal of Plant, Animal and Environmental Sciences*. 2019;9(3):145–163.
49. Sukhikh S, Asyakina L, Korobenkov M, Skrypnik L, Pungin A, Ivanova S, et al. Chemical composition and content of biologically active substances found in *Cotinus coggygria*, *Dactylorhiza maculata*, *Platanthera chlorantha* growing in various territories. *Plants*. 2021;10(12). <https://doi.org/10.3390/plants10122806>

<https://doi.org/10.21603/2074-9414-2023-4-2469>
<https://elibrary.ru/WXUYQA>

Оригинальная статья
<https://fppt.ru>

Технология культивирования *Limnospira fusiformis* из озера Соленого (г. Омск)



Е. А. Молибога*, О. П. Баженова

Омский государственный аграрный университет имени П. А. Столыпина, Омск, Россия

Поступила в редакцию: 23.03.2023
Принята после рецензирования: 13.04.2023
Принята к публикации: 02.05.2023

*Е. А. Молибога: ea.moliboga@omgau.org,
<https://orcid.org/0000-0001-7226-5962>
О. П. Баженова: <https://orcid.org/0000-0003-2406-4319>

© Е. А. Молибога, О. П. Баженова, 2023



Аннотация.

При поиске альтернативных источников продовольствия среди возобновляемых биоресурсов большое внимание уделяется изучению пищевой ценности микроводорослей, в том числе нитчатых цианопрокариот. Фитомасса является источником протеинов и биологически активных веществ и может быть использована в качестве биодобавки, т. к. обладает ценными питательными свойствами. Цель исследования – разработать технологию культивирования штамма *Limnospira fusiformis* О9.13F, выделенного из воды озера Соленого (г. Омск, Россия), для получения наибольших объемов экологически чистой фитомассы, пригодной для пищевых целей.

Объект исследования – нитчатая цианопрокариота *L. fusiformis* штамма О9.13F. Выделение чистой культуры штамма *L. fusiformis* О9.13F проводили микропипеточным способом из проб воды, отобранных в озере Соленом после окончания цветения воды. Культивирование осуществляли в климатической камере тепла и влажности UT-6070 на различных средах, основанных на сочетании среды Заррука и стерильной озерной воды в разных соотношениях.

Штамм *L. fusiformis* О9.13F показал наибольшую скорость нарастания фитомассы при температуре культивирования 20 ± 2 °C и интенсивности света 10–30 $\mu\text{моль фотонов/м}^2\text{с}$ (режим чередования света и темноты 12:12 ч). Оптимальной средой для культивирования штамма была среда, состоящая из минеральной жидкой среды Заррука и стерилизованной воды из озера в соотношении 5:5. При длительном культивировании (более 20 суток) для предотвращения оседания фосфатов из минеральной среды необходимо применять механическое перемешивание или использовать культиватор КВ-06 Европолitest. Оптимальная частота пересевов культуры – один раз в 5–7 суток. При меньшей частоте пересева отметили, что лимноспира не успевала сформировать полноценные трихомы, и наращивание объема фитомассы замедлялось.

Предлагаемая технология культивирования штамма *L. fusiformis* О9.13F позволяет получать большой объем фитомассы в короткие сроки с незначительными финансовыми затратами. Дальнейшие исследования авторов направлены на изучение возможности использования экологически чистой фитомассы *L. fusiformis* как самостоятельного биологического компонента в питании человека, а также в качестве функционально значимого рецептурного компонента пищевых продуктов.

Ключевые слова. *Limnospira fusiformis*, цианопрокариоты, культивирование, фитомасса, пищевая добавка, Западная Сибирь

Финансирование. Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда (РНФ) № 22-26-20108, <https://rscf.ru/project/22-26-20108>

Для цитирования: Молибога Е. А., Баженова О. П. Технология культивирования *Limnospira fusiformis* из озера Соленого (г. Омск) // Техника и технология пищевых производств. 2023. Т. 53. № 4. С. 689–697. <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2023-4-2469>

Cultivating *Limnospira fusiformis* from Lake Solenoye, Omsk



Elena A. Moliboga*, Olga P. Bazhenova

P.A. Stolypin Omsk State Agrarian University, Omsk, Russia

Received: 23.03.2023

Revised: 13.04.2023

Accepted: 02.05.2023

*Elena A. Moliboga: ea.moliboga@omgau.org,

<https://orcid.org/0000-0001-7226-5962>

Olga P. Bazhenova: <https://orcid.org/0000-0003-2406-4319>

© E.A. Moliboga, O.P. Bazhenova, 2023



Abstract.

Global food shortages make it necessary to look for alternative renewable bioresources. In the south of Western Siberia, the filamentous cyanoprokaryote *Limnospira fusiformis* triggers seasonal algae bloom in hyperhaline alkaline Lake Solenoye. The species has valuable nutritional properties, and its phytomass is a potential source of proteins and biologically active substances. The O9.13F strain of *L. fusiformis* has a good potential as a bioadditive in animal feeding. The article offers a technology for cultivating O9.13F of *L. fusiformis*, isolated from Lake Solenoye. The research objectives were to establish the optimal cultivation conditions, medium, and periodicity.

The study featured strain O9.13F of filamentous cyanoprokaryote *L. fusiformis*. The micropipette method made it possible to isolate pure culture from water samples taken from Lake Solenoye, Omsk, Russia, at the end of algae bloom. The cultivation involved a UT-6070 climatic chamber under uniform illumination with light intensity 10–30 $\mu\text{mol photons/m}^2\text{s}$ and 12-h light-dark circle at $20 \pm 2^\circ\text{C}$ on various media: natural habitat – water from the Solenoye Lake; mineral medium – liquid Zarrouk's medium; agarized Zarrouk's medium; composite variants, where the ratio of mineral medium vs. water varied from 1:9 to 9:1.

Lake water inhibited the culture growth: the trichomes died and sank on day 10–15. Zarrouk's agarized medium stopped the culture growth as early as on day 2. The most intensive growth and development of the culture was observed in the samples with Zarrouk's mineral liquid medium and a composite mix of Zarrouk's medium and sterilized water at a ratio of 5:5. Without stirring, full-fledged trichomes had no time to develop, and the increase in phytomass volume slowed down. O9.13F showed the highest rate of phytomass growth at a cultivation temperature of $20 \pm 2^\circ\text{C}$ and a light intensity of 10–30 $\mu\text{mol photons/m}^2\text{s}$. The recommended light-dark circle was 12:12 h. Zarrouk's mineral liquid medium and a composite medium of Zarrouk's medium and sterilized water proved to be optimal in a UT-6070 environmental chamber. Europolitext KV-06 or mechanical mixing could prevent sedimentation of phosphates after 20 days of cultivation. The optimal recultivation frequency was once every 5–7 days.

The new cultivation technology made it possible to obtain a significant volume of *L. fusiformis* phytomass in a short time and with low financial expenses.

Keywords. *Limnospira fusiformis*, cyanoprokaryotes, cultivation, phytomass, food additive, Western Siberia

Funding. The research was supported by the Russian Science Foundation (RSF), grant No. 22-26-20108, <https://rscf.ru/project/22-26-20108>

For citation: Moliboga EA, Bazhenova OP. Cultivating *Limnospira fusiformis* from Lake Solenoye, Omsk. Food Processing: Techniques and Technology. 2023;53(4):689–697. (In Russ.). <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2023-4-2469>

Введение

Сегодня человечество испытывает воздействие нескольких крупных проблем, т. н. глобальных вызовов, заставляющих искать новые пути их решения для устойчивого развития цивилизации. Одна из острейших мировых проблем – дефицит продовольствия. Ведущие эксперты Международного валютного фонда предупреждают: «Проблема с голодом грозит обостриться, и последствия могут быть крайне тяжелыми». Еще сильнее отдели-

лась поставленная ООН цель в области устойчивого развития – ликвидация голода к 2030 г.

Сложившаяся мировая ситуация требует поиска альтернативных источников продовольствия, относящихся к возобновляемым биоресурсам [1–3]. Кроме традиционной продукции сельского хозяйства, рыбного промысла и пр., пристальное внимание сегодня уделяется изучению пищевой ценности микроводорослей, среди которых одно из первых мест занимают нитчатые цианопрокариоты родов

Arthrospira Sitzenberger ex Gomont 1892 и *Limnospira* Nowicka-Krawczyk, Mühlsteinová et Hauer 2019 [4]. Эти водоросли широко распространены в различных водоемах и реках по всему миру, преимущественно в странах с теплым климатом [5, 6]. Питательная ценность этих видов цианопрокариот известна с древних времен. Сегодня они широко используются во всем мире как диетический продукт или биологически активная добавка к пище, входят в состав косметических и лечебно-профилактических препаратов, а также могут использоваться для получения биотоплива [5, 7–13]. Помимо своих питательных свойств, водоросли *Arthrospira/Limnospira* обладают терапевтическим и промышленным потенциалом [14, 15].

Limnospira fusiformis (Voronichin) Nowicka-Krawczyk, Mühlsteinová et Hauer 2019 встречается в водах с разным уровнем солености. Данная цианопрокариота способна адаптироваться к пресноводным щелочным условиям, а также к соленым щелочным и даже гипергалинным средам [16–19].

При проведении биомониторинга водоемов г. Омска (юг Западной Сибири) в гипергалинном щелочном озере Соленом была найдена цианопрокариота *L. fusiformis*, вызывающая в летне-осенний период цветение воды [17]. Позднее новый штамм лимноспир из озера Соленого получил название О9.13F. На основании молекулярно-генетических и физиологических исследований была дана полная характеристика его генома и физиологических особенностей [20].

Штамм О9.13F показал самый высокий относительный индекс роста и наибольшее накопление белков и фотосинтетических пигментов в биомассе при культивировании при 20 °С, что ниже температуры 35 °С, которая считается оптимальной для штаммов *Arthrospira/Limnospira* [20]. Штамм О9.13F способен расти при 15 °С, самый высокий индекс роста в среде Заррука при этой температуре был отмечен при солености 200 г/л. Кроме того, штамм О9.13F может сохраняться при температуре около 9 °С в течение нескольких месяцев.

Состав жирных кислот, белков и фотосинтетических пигментов в биомассе штамма О9.13F, выращенного при разных температурах, продемонстрировал его потенциальную пригодность для выращивания в зоне умеренного климата. Сибирский штамм *Arthrospira/Limnospira* О9.13F является первым представителем новой клады III на основе гена 16S рРНК, геномная последовательность которого доступна в общедоступных базах данных (PKGD000000000) [20].

Изучение вида *L. fusiformis* из озера Соленого позволило определить запасы фитомассы в водоеме, оценить ее кормовую и биологическую ценность, дать токсикологическую оценку и установить возможности ее использования в качестве биодобавки

при кормлении животных. Фитомасса лимноспир служит богатым источником таких ценных веществ, как протеины, оксиды магния, кальций, железо и др., и полностью соответствует установленным нормативам содержания токсикантов и иных веществ в случае ее применения для кормления сельскохозяйственных животных [17].

Важное направление дальнейших работ по изучению лимноспир из озера Соленого – это изучение возможности ее использования в производстве продуктов для питания человека в качестве источника необходимых организму нутриентов и биологически активных веществ. Фитомасса лимноспир может быть использована как обогащающая добавка в составе пищевой продукции [9]. Для применения фитомассы лимноспир в непрерывном производстве пищевой продукции необходим ее постоянный запас. Однако в озере достаточные объемы фитомассы формируются только в теплое время года в период цветения воды, которое в условиях юга Западной Сибири длится 2–3 месяца. Для обеспечения потребностей пищевого производства необходимо разработать технологию культивирования штамма О9.13F.

Цель исследования – разработать технологию культивирования штамма *L. fusiformis* О9.13F, выделенного из озера Соленого, для получения наибольших объемов экологически чистой фитомассы.

Задачи исследования:

- установить оптимальные условия культивирования штамма;
- определить оптимальную периодичность пересева штамма;
- выбрать оптимальный вариант среды для культивирования.

Объекты и методы исследования

Объект исследования – нитчатая цианопрокариота *Limnospira fusiformis* штамма О9.13F из озера Соленого, расположенного на территории г. Омска в зоне умеренного климата (юг Западной Сибири).

Начальной стадией в процессе культивирования штамма О9.13F являлся отбор из озера лимноспир. Планктонные пробы отбирали на открытых прибрежных участках озера Соленого 01 ноября 2022 г. зачерпыванием воды в стерильные контейнеры. Затем их транспортировали в лабораторию и хранили при постоянной температуре 20 °С. Это позволило обеспечить сохранение жизнеспособности лимноспир. Отбор и пересадку трихомов с помощью микропипетки производили в течение получаса, поскольку время является важным фактором в процессе выделения водорослей. Успешный рост выделенных водорослей зависит от условий или состояния клеток во время сбора образцов, сам забор объекта из водоема может привести к повреждению клеток.



Рисунок 1. Трихомы лимносперы в придонных слоях воды озера Соленого, 01.11.2022 г.

Figure 1. *Limnospira* trichomes in the bottom layers of Lake Solenoye, November 1, 2022

В указанное время отбора цветение воды в озере уже подошло к концу, температура воды составляла 5 °С. При микроскопировании проб в них наблюдались трихомы лимносперы и незначительное количество криптонад. Представители зоопланктона и другие организмы отмечены не были (рис. 1).

При проведении пересадки отобранных водорослей в благоприятную среду может проявиться быстрое размножение вредных микроорганизмов, также водоросли могут внезапно погибнуть. Поэтому наблюдение за культурой и отслеживание чужеродных микроорганизмов проводилось каждые 1–2 дня. Зафиксированы случаи, когда некоторые организмы, которые не обнаруживаются в процессе сбора образцов, появляются спустя недели или месяцы. В нашем исследовании таких фактов не наблюдалось. В единичных случаях чужеродные организмы проявляли симптомы жизнедеятельности до 5 дней культивирования, а потом погибали.

Выделение чистой культуры штамма *L. fusiformis* O9.13F и его дальнейшее культивирование осуществляли в климатической камере тепла и влажности UT-6070. Для получения требуемых объемов фитомассы лимносперы использовали культиватор KB-06 Европолитест. Это обусловлено тем, что штамм лимносперы для нормального роста требует движения воды, т. к. трихомы погибают при длительном выращивании в обычных сосудах.

Водоросли в условиях стресса (отбор и пересадка образцов) плохо адаптируются к специфическим питательным средам и могут изменить свою морфологию. Поэтому при культивировании проводился постоянный контроль роста и размножения культуры на световом микроскопе Levenhuk MED D 20 T LCD, фиксируя ее состояние с помощью фотонасадки Eakins – 34MP Microscope Camera.

Обычным способом сохранения культур является постоянное их поддерживание в контролируемых условиях, наиболее приближенных к природным. Выбор оптимальной среды является важным условием успешного культивирования водорослей. Поэтому культивирование лимносперы осуществляли в следующих вариантах: естественная среда обитания – вода из озера Соленого, минеральная среда – жидкая среда Заррука, агаризованная среда Заррука, композиционные варианты – соотношение минеральной среды с водой из водоема варьировалось от 1:9 до 9:1 соответственно. Для приготовления минеральной, агаризованной и композиционных вариантов среды использовали стерильные компоненты.

При культивировании штамма на различных средах исследовали следующие показатели: активная реакция среды (рН), количество трихомов в определенном объеме среды (0,02 мкл), оптическая плотность культуры, наличие метаболических признаков роста и развития.

Экспериментальное определение условий для оптимального роста штамма O9.13F проходило за счет параллельного запуска установок для культивирования (камеры и культиватора) с использованием различных вариантов среды.

Освещение. Культивирование штамма O9.13F осуществляли при равномерном освещении с интенсивностью света 10–30 $\mu\text{моль фотонов/м}^2\text{с}$. Ранее в исследованиях было установлено, что такая интенсивность света в комбинации с соответствующей температурой (20–25 °С) оптимальна для культивирования водорослей. Кроме того, умеренное освещение при культивировании *L. fusiformis* увеличивает производство фикоцианина, а высокая интенсивность света подавляет его [21]. Чтобы сократить стресс для культуры от постоянного освещения, чередование света и темноты осуществлялось в режиме 12:12 ч. Другая периодичность чередования света и темноты не применялась из-за возможного нежелательного фотопериодического эффекта, например, формирование цист.

Температурный режим влияет на водоросли при культивировании. Хотя данный вид культур толерантен к изменению температуры, отмечено, что на верхних ярусах климатической камеры происходит фотоингибирование и повреждение клеток. Поэтому температура выше 20 °С не подходит для культивирования большинства водорослей. Кроме того, при повышении температуры увеличивается интенсивность испарения среды. Ранее было установлено, что штамм O9.13F показывает самый высокий относительный индекс роста при культивировании при 20 °С [20]. Поэтому в наших экспериментах температура в камере и культиваторе поддерживалась на уровне 20 ± 2 °С.

Частота пересевов. Для получения чистой культуры пересадку трихомов осуществляли в чашках Петри, затем посев был произведен в колбы. Этот

вид лабораторной посуды удобен для обеспечения стерильных условий культивирования. Для лучшего газообмена в колбах использовали ватные пробки. В дальнейшем их заворачивали в металлическую фольгу для предотвращения испарения.

Основополагающим условием культивирования штамма являлось поддержание метаболически активной культуры с целью сохранения запаса трихомов, достигнувших устойчивого морфологического и физиологического статуса и перехода к массовому культивированию.

Постоянные пересевы в сочетании с использованием асептических микробиологических методик, включающих в себя перемещение водорослей, которые находятся в стационарной фазе роста, на свежую стерилизованную среду, позволяют получить метаболически активную культуру в короткие сроки. Целью этой процедуры является сохранение жизнеспособной и физиологически, морфологически и генетически репрезентативной популяции. Ключевым фактором является разный возраст субкультуры, который может обеспечивать различные стадии жизненного цикла. При постоянном культивировании основной целью является сохранение организма в конце экспоненциальной фазы роста. Исследуемый штамм О9.13F подвергался пересадке каждые 5–7 суток роста, поскольку более частый пересев не позволял нарастить нужного объема.

Результаты и их обсуждение

Все образцы *Limnospira fusiformis* штамма О9.13F через 24 ч культивирования при одинаковых условиях (20 ± 2 °C, $10\text{--}30$ $\mu\text{моль фотонов/м}^2\text{с}$) на различных средах показали стабильное состояние (рис. 2).

На 7-е сутки культивирования на всех средах отмечен рост трихомов, их удлинение и закручивание в спирали, что говорит о благоприятных условиях для жизнедеятельности *L. fusiformis* (рис. 3).

На 15-е сутки культивирования процесс роста лимноспиры усилился. Культура лимноспиры, выращиваемая на естественной среде обитания, продолжает активно расти и размножаться, формируя типичные спирально закрученные трихомы (рис. 4).

При культивировании лимноспиры на минеральной среде Заррука на 15-е сутки происходит ускорение роста и закручивания трихомов по сравнению с исходной средой (рис. 5).

При культивировании лимноспиры на композиционной смеси 5:5 на 15-е сутки рост и развитие культуры происходит интенсивнее (рис. 6).

На 20-е сутки культивирования лимноспиры на минеральной среде Заррука отмечен активный рост и удлинение трихомов. При отсутствии периодического перемешивания в минеральной среде происходит выпадение фосфатов в осадок, на котором накапливаются трихомы. При перемешивании среды осадок растворяется (рис. 7).

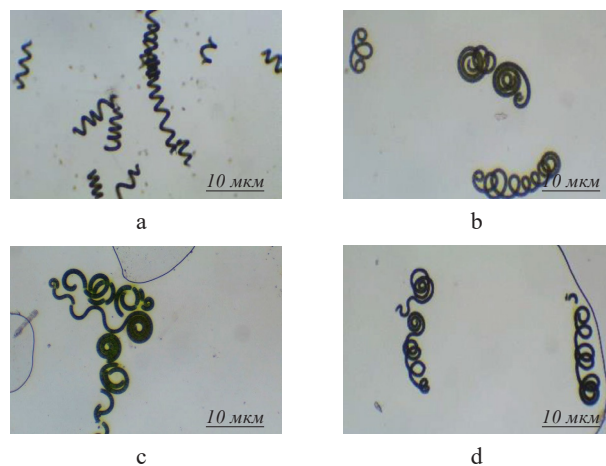


Рисунок 2. Микрофотографии *Limnospira fusiformis* в первые сутки культивирования на разных средах: а, б – естественная среда обитания; с – минеральная среда (жидкая среда Заррука); д – композиционная смесь (минеральная среда:вода водоема, 1:1)

Figure 2. *Limnospira fusiformis* on cultivation day 1 in different media: а, b – natural habitat; с – mineral medium (Zarrouk's medium); and d – composite mix (mineral medium:water, 1:1)

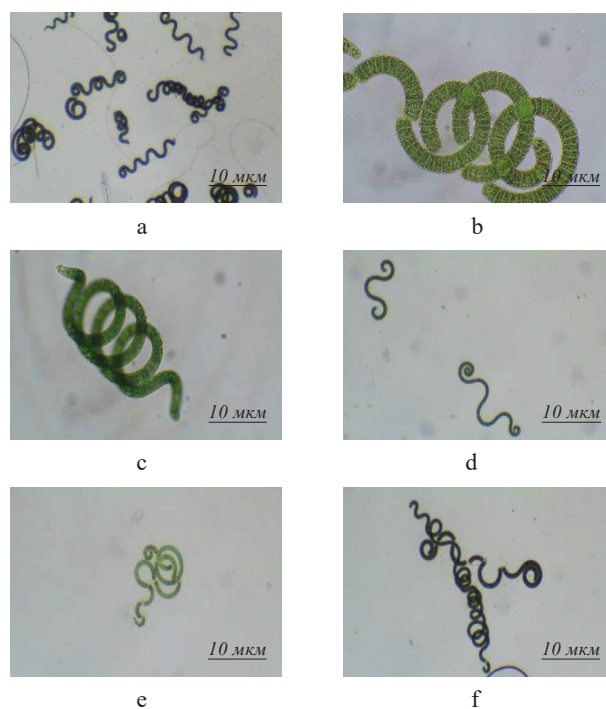


Рисунок 3. Микрофотографии *Limnospira fusiformis* на 7-е сутки культивирования на разных средах: а, б, с – естественная среда обитания; д, е – минеральная среда (среда Заррука); ф – композиционная смесь (минеральная среда:вода водоема, 1:1); масштабная линейка – 10 мкм

Figure 3. *Limnospira fusiformis* on cultivation day 7 in different media: а, b, с – natural habitat; d, e – mineral environment (Zarrouk's medium); and f – composite mix (mineral medium:water, 1:1). Scale bar – 10 μm

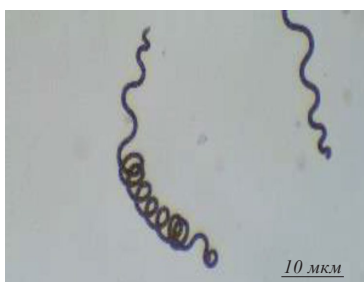


Рисунок 4. Микрофотографии *Limnospira fusiformis* на 15-е сутки культивирования на естественной среде обитания

Figure 4. *Limnospira fusiformis* on cultivation day 15, natural habitat

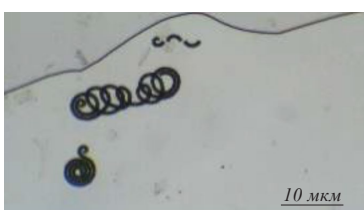


Рисунок 5. Микрофотографии *Limnospira fusiformis* на 15-е сутки культивирования на минеральной среде

Figure 5. *Limnospira fusiformis* on cultivation day 15, mineral medium

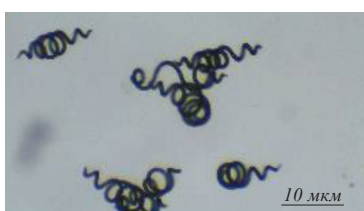


Рисунок 6. Микрофотографии *Limnospira fusiformis* на 15-е сутки культивирования на композиционной смеси 5:5

Figure 6. *Limnospira fusiformis* on cultivation day 15, composite mix 5:5



a



b

Рисунок 7. Микрофотографии *Limnospira fusiformis* на 20-е сутки культивирования на минеральной среде: а – трихомы во взвеси; б – оседание трихомов

Figure 7. *Limnospira fusiformis* on cultivation day 20, mineral medium: a – trichomes in suspension; b – sedimentation of trichomes

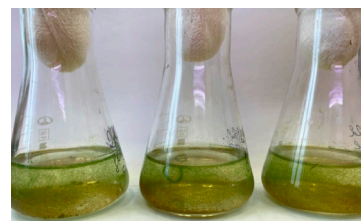


Рисунок 8. Рост культуры лимноспир на воде озера Соленое на 10–15-е сутки культивирования

Figure 8. *Limnospira* culture in Solenoye Lake water, cultivation days 10–15

При выращивании лимноспир на воде из озера Соленого рост и развитие культуры постепенно замедлялись, и на 10–15-е сутки происходило отмирание трихомов и их оседание на дно сосуда (рис. 8).

Изучение роста культуры на различных вариантах композиционной среды происходило в течение 5–10 суток. При увеличении объема воды из озера в композициях 2:8, 4:6 и 5:5 в течение 5 суток происходит активный рост фитомассы. Наибольшая оптическая плотность культуры отмечена на композиционной среде 5:5.

На 10-е сутки культивирования в композиционных средах 2:8 и 4:6 происходит оседание трихомов, потерявших жизнеспособность. В композиционных средах с наибольшим количеством минеральной питательной среды (композиции 6:4 и 8:2) отмечено оседание трихомов, но не такое активное, как на средах 2:8 и 4:6. Как и на 5-е сутки культивирования, отмечена высокая оптическая плотность культуры и

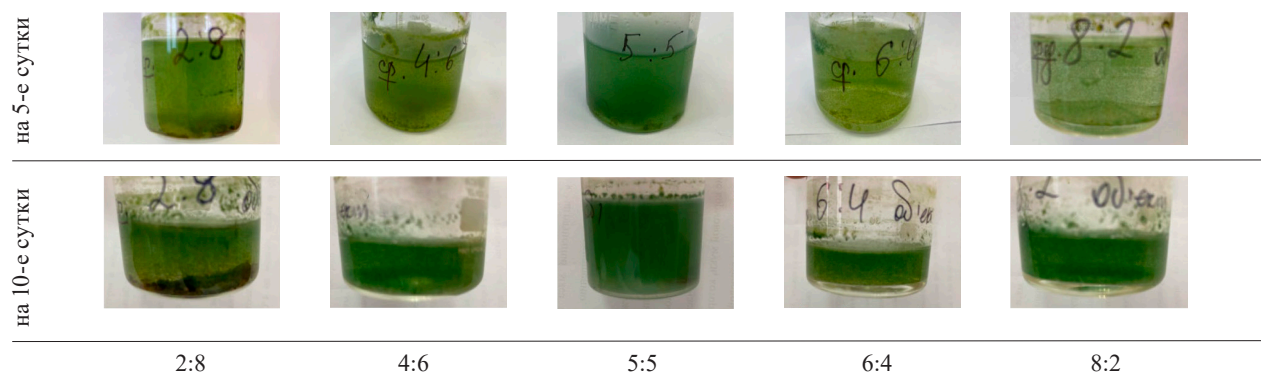


Рисунок 9. Динамика роста культуры лимносперы на различных композиционных вариантах среды

Figure 9. Limnospira culture on various composite mixes

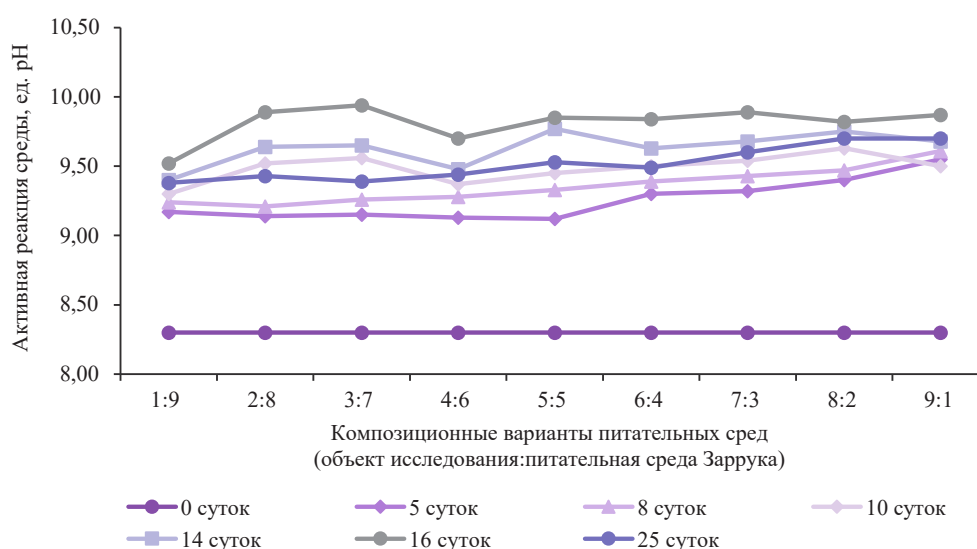


Рисунок 10. Изменение pH среды на различных композиционных вариантах

Figure 10. pH in various composite mixes

отсутствие оседания трихомов на композиционной среде 5:5. Выборка микрофотографий культуры лимносперы на различных вариантах композиционной среды приведена на рисунке 9.

При выращивании культуры на различных средах наблюдалось увеличение активной реакции среды (pH) от 8,33 в начале культивирования (pH среды Заррука) до 9,94 в конце, что соответствует данным из исследования А. Е. Misztak и др. [20]. Максимальные показатели pH на всех вариантах среды (9,52–9,94) достигаются на 16-е сутки культивирования. Это является оптимальными для штамма показателями и отражает наилучшее состояние культуры. На 25-е сутки культивирования на всех средах pH снижается, колеблясь в пределах 9,38–9,70 (рис. 10).

На всех композиционных средах на 15–16-е сутки культивирования наблюдаются хорошо сформированные трихомы лимносперы, но наиболее ярко вы-

раженные морфологические признаки трихомов формируются при культивировании на композиционной смеси 5:5 (рис. 6).

При проведении экспериментальных исследований, направленных на определение наилучшей питательной среды для культивирования лимносперы, производили подсчет количества трихомов в единице объема (0,02 мкл). Исходное количество трихомов, подвергнутых пересадке на выбранные среды, было одинаково, а их состояние удовлетворительное. На 5-е сутки культивирования на питательной среде «вода озера» количество жизнеспособных трихомов было выше, чем на композиционной среде 5:5. Начиная с 15-х суток культивирования на композиционной питательной среде 5:5, наблюдался более интенсивный рост лимносперы, чем на воде из озера. При этом происходит фрагментация трихомов, быстрый рост и спирализация фрагментов (рис. 11).

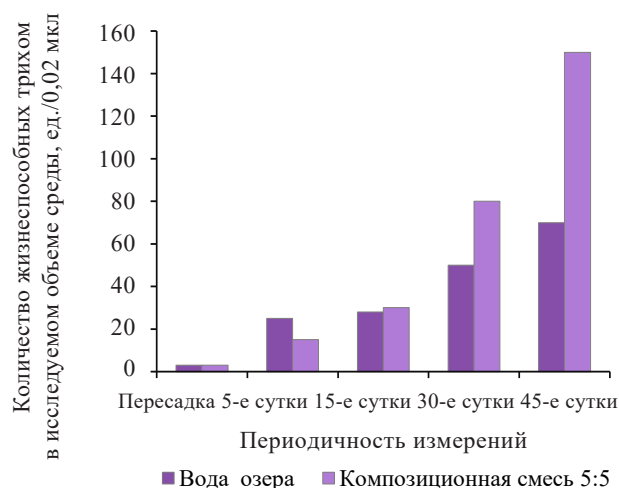


Рисунок 11. Динамика прироста трихомов лимноспир на разных питательных средах

Figure 11. Growth dynamics of *Limnospira* trichomes on different nutrient media

Выводы

Исследуемый штамм *Limnospira fusiformis* O9.13F показал наибольшую скорость нарастания фитомассы при температуре культивирования 20 ± 2 °C и интенсивности света 10–30 $\mu\text{моль фотонов}/\text{м}^2\text{с}$. Рекомендуемый режим чередования света и темноты 12:12 ч.

Оптимальными средами для культивирования штамма *L. fusiformis* O9.13F являются минеральная жидкая среда Заррука и композиционная среда (среда Заррука:стерилизованная вода из водоема в соотношении 5:5). На агаризованной среде Заррука рост культуры прекращается на вторые сутки.

Для культивирования штамма O9.13F рекомендовано использование климатической камеры тепла и влажности UT-6070. Для предотвращения оседания фосфатов из минеральной среды при длительном культивировании (более 20 суток) рекомендуется применение культиватора KB-06 Европолитест или механическое перемешивание минеральной среды.

Рекомендуемая частота пересевов культуры – один раз в 5–7 суток. При меньшей частоте посева лимноспира не успевает сформировать пол-

ноценные трихомы, и наращивание объема фитомассы замедляется.

Разработанная технология культивирования штамма *L. fusiformis* O9.13F для использования в качестве пищевой добавки позволяет получать большой объем фитомассы в короткие сроки с незначительными финансовыми затратами. При использовании разработанной технологии в промышленных масштабах рекомендуется проводить постоянный контроль процесса культивирования, что позволит избежать элементов «сезонности» при использовании данного вида сырья в пищевой и перерабатывающей промышленности.

Критерии авторства

Е. А. Молибога – руководитель проекта РФФИ: практическое проведение научно-исследовательских работ, связанных с отработкой технологии культивирования *Limnospira fusiformis*. О. П. Баженова – проведение сравнительного анализа полученных данных на основе кабинетных исследований.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Благодарности

Выражаем благодарность Российскому научному фонду за предоставленную возможность провести полноценный цикл экспериментальных исследований, направленных на изучение возможности культивирования штамма *Limnospira fusiformis* O9.13F.

Contribution

E.A. Moliboga supervised the project and performed the laboratory procedures. O.P. Bazhenova compared the desk research data.

Conflict of interest

The authors declare that there is no conflict of interests regarding the publication of this article.

Acknowledgments

The authors express their gratitude to the Russian Science Foundation for the opportunity to conduct a full cycle of experimental studies.

References/Список литературы

- Kaledin AP, Stepanova MV. Bioaccumulation of trace elements in vegetables grown in various anthropogenic conditions. *Foods and Raw Materials*. 2023;11(1):10–16. <https://doi.org/10.21603/2308-4057-2023-1-551>
- Flyurik EA, Ermakova OS. *Medusomyces gisevii* L.: cultivation, composition, and application. *Foods and Raw Materials*. 2023;11(1):152–161. <https://doi.org/10.21603/2308-4057-2023-1-563>
- Dmitrieva AI, Faskhutdinova ER, Drozdova MYu, Kutuzov SS, Proskuryakova LA. Phylogenetic diversity of microorganisms from the Abakan Arzhan thermal spring: Potential producers of microbial energy. *Food Processing: Techniques and Technology*. 2022;52(3):458–468. (In Russ.). <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2022-3-2384>

4. Asyakina LK, Vorob'eva EE, Proskuryakova LA, Zharko MYu. Evaluating extremophilic microorganisms in industrial regions. *Foods and Raw Materials*. 2023;11(1):162–171. <https://doi.org/10.21603/2308-4057-2023-1-556>
5. Bortolini DG, Maciel GM, Fernandes IAA, Pedro AC, Rubio FTV, Branco IG, *et al.* Functional properties of bioactive compounds from *Spirulina* spp.: Current status and future trends. *Food Chemistry: Molecular Sciences*. 2022;5. <https://doi.org/10.1016/j.fochms.2022.100134>
6. Hassan FM, Mahdi WM, Al-Haideri HH, Kamil DW. Identification of new species record of Cyanophyceae in Diyala River, Iraq based on 16S rRNA sequence data. *Biodiversitas*. 2022;23(10):5239–5246. <https://doi.org/10.13057/biodiv/d231033>
7. de Moraes MG, Alvarenga AGP, Vaz BS, Costa JAV. Nanoencapsulation of *Spirulina* biomass by electrospraying for development of functional foods – A review. *Biotechnology Research and Innovation*. 2021;5(2). <https://doi.org/10.4322/biori.21050204>
8. El-Baky NA, Rezk NMF, Amara AA. *Arthrospira platensis* variants: A comparative study based on c-phycocyanin gene and protein, habitat, and growth conditions. *Journal of Marine Science and Engineering*. 2023;11(3). <https://doi.org/10.3390/jmse11030663>
9. Pogorelova NA, Boyko TV, Moliboga EA. Intensity of blood lipidperoxidation when added spirulin-containing processed analogue cheese in the diet (experimental study). *Agricultural Bulletin of Stavropol Region*. 2018;31(3):15–20. (In Russ.). <https://doi.org/10.31279/2222-9345-2018-7-31-15-20>
10. Bogdanov VD, Simdiankin AA, Pankina AV, Mostovoi VD. New functional formulations for dry seafood concentrates and their properties. *Food Processing: Techniques and Technology*. 2020;50(4):707–716. (In Russ.). <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2020-4-707-716>
11. Ainas M, Hasnaoui S, Bouarab R, Abdi N, Drouiche N, Mameri N. Hydrogen production with the cyanobacterium *Spirulina platensis*. *International Journal of Hydrogen Energy*. 2017;42(8):4902–4907. <https://doi.org/10.1016/j.ijhydene.2016.12.056>
12. Krishnan A, Qian X, Ananyev G, Lun DS, Dismukes GC. Rewiring of cyanobacterial metabolism for hydrogen production: synthetic biology approaches and challenges. In: Zhang W, Song X, editors. *Synthetic biology of cyanobacteria*. Singapore: Springer; 2018. pp. 171–213. https://doi.org/10.1007/978-981-13-0854-3_8
13. Suzuki S, Yamaguchi H, Kawachi M. The draft genome of a hydrogen-producing cyanobacterium, *Arthrospira platensis* NIES-46. *Journal of Genomics*. 2019;7:56–59. <https://doi.org/10.7150/jgen.38149>
14. Andrade G, Labarca TF, Llanca V, Morales P, Sabando K, Ortuno D. Using *Spirulina* as an adjuvant to the treatment of Periodontitis: A systematic review of clinical trials. *Research Square*. 2023. <https://doi.org/10.21203/rs.3.rs-2539298/v1>
15. Furmaniak MA, Misztak AE, Franczuk MD, Wilmutte A, Waleron M, Waleron KF. Edible cyanobacterial genus *Arthrospira*: Actual state of the art in cultivation methods, genetics, and application in medicine. *Frontiers in Microbiology*. 2017;8. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.02541>
16. Dadheech PK, Ballot A, Casper P, Kotut K, Novelo E, Lemma B, *et al.* Phylogenetic relationship and divergence among planktonic strains of *Arthrospira* (Oscillatoriales, Cyanobacteria) of African, Asian and American origin deduced by 16S–23S ITS and phycocyanin operon sequences. *Phycologia*. 2010;49(4):361–372. <https://doi.org/10.2216/09-71.1>
17. Bazhenova OP, Konovalova OA. Phytoplankton of lake Solenoye (Omsk) as a promising source of bioresources. *Sibirskiy Ekologicheskii Zhurnal*. 2012;19(3):375–382. (In Russ.). [Баженова О. П., Коновалова О. А. Фитопланктон озера соленого (г. Омск) как перспективный источник биоресурсов // Сибирский экологический журнал. 2012. Т. 19. № 3. С. 375–382.]. <https://elibrary.ru/OZLGQR>
18. Makeeva EG, Osipova NV. Algae of the salt Lake Altaiskoye (Republic of Khakassia): Taxonomic composition and ecological features. *Inland Water Biology*. 2022;(2):118–126. (In Russ.). <https://doi.org/10.31857/S0320965222020073>
19. Nowicka-Krawczyk P, Mühlsteinová R, Hauer T. Detailed characterization of the *Arthrospira* type species separating commercially grown taxa into the new genus *Limnospira* (Cyanobacteria). *Scientific Reports*. 2019;9. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-36831-0>
20. Misztak AE, Waleron M, Furmaniak M, Waleron MM, Bazhenova O, Daroch M, *et al.* Comparative genomics and physiological investigation of a new *Arthrospira/Limnospira* strain O9.13F isolated from an alkaline, winter freezing, Siberian Lake. 2021;10(12). <https://doi.org/10.3390/cells10123411>
21. Kareem HA, Alghanmi HA. Effects of various light intensities on phycocyanin composition of cyanobacterium *Limnospira fusiformis* (Voronichin) Nowicka-Krawczyk, Mühlsteinová et Hauer. *Malaysian Journal of Science*. 2023;42(1). <https://doi.org/10.22452/mjs.vol42no1.1>

<https://doi.org/10.21603/2074-9414-2023-4-2471>
<https://elibrary.ru/YDDGAU>

Review article
Available online at <https://fptt.ru/en>

Approaches to Developing New Complex Meat Products with Preset Quality



Alexei S. Miroshnik^{1,*}, Ivan F. Gorlov^{1,2},
Marina I. Slozhenkina^{1,2}

¹ Volga Region Research Institute of Manufacture and Processing of Meat-and-Milk Production^{ROR}
Volgograd, Russia

² Volgograd State Technical University^{ROR}, Volgograd, Russia

Received: 28.03.2023

Revised: 31.05.2023

Accepted: 06.06.2023

*Alexei S. Miroshnik: AlexMiroshnik.de@gmail.com,

<https://orcid.org/0000-0002-8817-6435>

Ivan F. Gorlov: <https://orcid.org/0000-0002-8683-8159>

Marina I. Slozhenkina: <https://orcid.org/0000-0001-9542-5893>

© A.S. Miroshnik, I.F. Gorlov, M.I. Slozhenkina, 2023



Abstract.

A profitable meat-processing business relies on the rational use of its resources, which, in its turn, depends on the constant improvement of product formulations and development of new ones. These operations involve advanced analytical methods and complex approaches. The article introduces a review of modern technical solutions, methods, and approaches to modeling new complex meat products with preset quality indicators.

The review (1990–2022) involved research articles published in high-rated peer-reviewed research journals, educational literature, digital theses published by Russian Dissertation Councils, and patents registered by the Institute of Industrial Property.

The synchronic and diachronic analysis of basic principles of food product design and parametric modeling revealed no universal methodology for meat products development, both in terms of goals and applicability to different meat products types. Forecasting of finished meat products quality indicators requires relevant and accurate information, which is highly variable and fast-changing. Unfortunately, advanced information technologies are slow to adapt to the urgent tasks of the food industry.

As a result, the current methods for developing new complex meat product formulations are useless when meat producers have no access to relevant and self-updating databases on raw materials properties.

Keywords. Food combinatorics, mathematical modeling, digital twin, structural and parametric optimization, cyclic approach, mathematical programming, biological value

For citation: Miroshnik AS, Gorlov IF, Slozhenkina MI. Approaches to Developing New Complex Meat Products with Preset Quality. Food Processing: Techniques and Technology. 2023;53(4):698–709. <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2023-4-2471>

Подходы к проектированию рецептур мясных продуктов с заданными показателями качества



А. С. Мирошник^{1,*}, И. Ф. Горлов^{1,2}, М. И. Сложенкина^{1,2}

¹ Поволжский научно-исследовательский институт производства и переработки мясомолочной продукции^{ROR}, Волгоград, Россия

² Волгоградский государственный технический университет^{ROR}, Волгоград, Россия

Поступила в редакцию: 28.03.2023

Принята после рецензирования: 31.05.2023

Принята к публикации: 06.06.2023

*А. С. Мирошник: AlexMiroshnik.de@gmail.com,

<https://orcid.org/0000-0002-8817-6435>

И. Ф. Горлов: <https://orcid.org/0000-0002-8683-8159>

М. И. Сложенкина: <https://orcid.org/0000-0001-9542-5893>

© А. С. Мирошник, И. Ф. Горлов, М. И. Сложенкина, 2023



Аннотация.

Рациональное использование ресурсов мясоперерабатывающего предприятия является основой для поддержания высокого уровня рентабельности производства и зависит от постоянного совершенствования существующих рецептур мясных продуктов и разработки новых. Эффективное выполнение этих задач возможно при использовании аналитических методов, а также комплексного и системного подходов. Рассмотрели особенности, недостатки и преимущества современных технических решений, методов и подходов к моделированию поликомпонентных мясных продуктов с заданными показателями качества.

Изучили научные статьи рецензируемых ведущих научных изданий, учебно-методические материалы, научно-исследовательские работы, опубликованные в электронном виде диссертационными советами Российской Федерации, и объекты интеллектуальной собственности, размещенные в открытых реестрах Федерального института промышленной собственности, в период 1990–2022 гг. по изучаемой теме.

Представили описание основных принципов проектирования пищевой продукции и особенностей параметрических моделей, используемых для описания пищевых систем. Установили отсутствие универсальной методики разработки мясной продукции как в аспекте применимости к различным видам поликомпонентных мясных продуктов, так и целей проектирования.

Ни один из разработанных методов проектирования рецептурного состава многокомпонентных мясных систем без наличия фактической информации о показателях сырья из-за их высокой вариабельности в реальных условиях, а также медленной адаптации передовых информационных технологий под задачи пищевой промышленности не позволяет достичь высокого уровня точности прогнозирования качественных показателей готовой продукции. Создание общедоступной, подробной и постоянно обновляющейся базы данных по показателям качества сырья могло бы частично решить эту проблему.

Ключевые слова. Пищевая комбинаторика, математическое моделирование, цифровой двойник, структурно-параметрическая оптимизация, циклический подход, математическое программирование, биологическая ценность

Для цитирования: Мирошник А. С., Горлов И. Ф., Сложенкина М. И. Подходы к проектированию рецептур мясных продуктов с заданными показателями качества // Техника и технология пищевых производств. 2023. Т. 53. № 4. С. 698–709. (На англ.). <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2023-4-2471>

Introduction

Meat processing needs new effective and universal methods to increase its profitability. As a rule, such methods are based on a rational use of enterprise resources. Currently, the food industry tackles this urgent issue by updating the range of food products.

However, new formulations are short-lived because they fail to keep pace with the rapidly changing market conditions. Quite often, even the most advantageous

food formulations fail to meet the physiological needs of professional or age communities. They have to be updated in accordance with the discoveries made by nutrition science, which keeps finding new raw materials and ingredients, including structure formers [1–5]. Some authors report a general trend towards expanding the range of products that are totally different from those in current circulation [6–9]. Thus, meat producers have two options: either they create new products or they

modify conventional formulations. The first option results in high costs and long trials. The second is associated with the specifics of food systems: for old formulations to be improved, new ingredients require sophisticated mathematical dependencies for quality and quantity key indicators [10, 11].

Complex products are difficult to develop as they require advanced analytical methods. Product costing depends on the ever-changing consumer demands, methods of obtaining meat raw materials, seasonal or regional quality fluctuations for each ingredient, etc.

Programming food quality indicators is connected with a large number of indicators to be optimized. These days, this process is totally digital, which means that food technologists have to possess various scientific skills in such spheres as: software engineering, mathematical programming, biochemistry, microbiology, nutrition, and rheology.

Therefore, only integrated and systematic approaches can optimize and update the commercial range of meat products. In this regard, the development of new food formulations with predetermined properties remains a relevant research issue.

This article reviews modern methodological approaches to modeling complex meat products with preset qualities.

Study objects and methods

The review involved standard methods of literature search. The research materials included the following publications released in 1990–2022:

- reviews and research articles published in scientific journals and proceedings of international conferences indexed in Scopus, Web of Science Core Collection, and eLIBRARY.RU;
- educational literature;
- online versions of Russian dissertations and theses; and
- patents registered on the website of the Federal Institute of Industrial Property.

The target audience is food industry workers. As a result, the review relied on publications that featured complete and applied research and covered neither popular science nor non-reviewed editions, whose reliability cannot be guaranteed.

Results and discussion

Most contemporary design methods for balanced meat products are based on the following principles formulated by Academician N.N. Lipatov, Russian Academy of Agricultural Sciences, back in 1990:

- a rationally balanced food product is a set of rationally balanced raw ingredients and materials;
- an optimal formulation for a protein-containing product is based on such a ratio of protein-containing components that provides the most balanced amino acid composition in relation to a statistically valid reference protein;

- the fatty acid composition can be changed by introducing fat-containing ingredients;
- an optimal formulation is based on such a ratio of fat-containing ingredients that provides an optimal ratio of saturated, mono-, and polyunsaturated fatty acids;
- a new formulation is part of a diet; hence, food designers should consider the composition of other dishes and products that will be consumed together with the one they are designing; and
- an optimal complex product has such a component composition that balances the daily diet in terms of biological value, calories, and ballast components [12–15].

These principles are universal, but their practical implementation is difficult because it depends on the product, optimization task, nutrition laws, and food chemistry [16–19].

A new food product has a pre-planned sensory profile, functional characteristics, technological properties, nutritional and biological value, etc. Logically, food product development is impossible without mathematical modeling and advanced information technologies, which, in their turn, require a parametric description and numerical expression of product characteristics [14, 16, 20, 21]. Meat product development also requires a comprehensive assessment of food safety and culinary properties [21]. Nikitina *et al.* developed the following set of parameters for meat product design (Table 1) [20].

More recent studies also put stress on the anti-alimentary and minor food components. For instance, Nugmanov added to this list such concepts as component entropy and energy value entropy, which reflect the degree of uncertainty about the presence of a particular component in the product composition [23].

When designing a new formulation for a meat product, all these parameters can be optimized by using parametric models [24]. According to Donskikh *et al.*, a hierarchical approach to food design should be object-oriented [25].

Ways to achieve the targeted quality of a new meat product differ in the following methods: selecting objective functions and limits; optimization; calculating indicators of biological protein value; calculating technological losses, interaction of micronutrients, and anti-nutritional factors; recording the chemical form of micronutrients; and developing the required structural and sensory properties.

No classification of such methods has been developed so far. However, the following trend is obvious: the younger the method, the more quality indicators it can optimize. This correlation is associated with new nutritional concepts and the growing digitalization of the food industry [20, 26–31]. As a result, this review covers contemporary methods only.

Nikitina *et al.* developed a design algorithm for complex meat products [14]. It gives a calculation sequence for the following chemical composition indicators:

Table 1. Meat product parametric description

Таблица 1. Параметрическое описание мясного продукта

Indicator group	Parameter
Organoleptic properties	Sight
	Smell
	Color
	Taste
	Juiciness
	Consistency
Energy value	Biological oxidation
Biological value	Protein content and amino acid composition
	Macro- and microelements
	Vitamins
	Carbohydrates and their composition
	Moisture content and water activity
	Fat content and composition
Safety	Microbial content
	Ballast content
	Toxins
	Chemical compounds caused by technological processing or storage
Culinary	Processing capacity
	Processing degree
Functional and technological	Water holding capacity
	Fat-binding capacity
	pH
	Plasticity
	Tenderness
Structural and mechanical characteristics	Water-binding capacity
	Protein content and state
	Fat content and state
	Content of connective tissue and tendons
	Texture
	Structure

- 1) system analysis and formulation ingredients;
- 2) proteins, fats, and carbohydrates;
- 3) amino and fatty acids;
- 4) energy value;
- 5) amino acid score for the main essential amino acids; and
- 6) utility factor and comparable redundancy.

Product development relies on software with a relevant database of fatty acid profiles for various products. In a more recent study, Nikitina & Sus added the stage of calculating the vitamin and mineral composition to the initial the algorithm [20]. However, the authors did not describe the stage of system analysis and ingredient matching. Moreover, the algorithm includes no stage of structural and sensory optimization, which means that the development process will be complicated by a long chain of trials.

Karpov & Portnov adhered to a similar algorithm but stated that the amino acid and fatty acid composition of the new product should comply with individual nutritional and diet requirements [32]. They suggest

achieving the optimal physical and chemical parameters by observing the ratios of fats vs. proteins and carbohydrates vs. proteins. However, their scheme also lacked the stage of analysis and ingredient matching.

Obviously, this method is applicable exclusively to the development of food products for client-tailored diets. Its obvious disadvantage is the effort-consuming selection of the variances in quality indicators, as well as in optimal amino acid and fatty acid compositions. Apparently, the only way to optimize the sensory profile of the new product is by numerous test trials.

Razumovskaya *et al.* emphasized the stage of raw material matching [33]. They offered a system that allows food designers to observe specific ratios of all components (Fig. 1).

The concepts of tolerance, stability, solubility, and introduction sequence make it possible to reduce the number of experimental trials. However, the method cannot be used to optimize the cost of raw materials and is quite labor-intensive because the sensory, physicochemical, and toxicological parameters are determined more

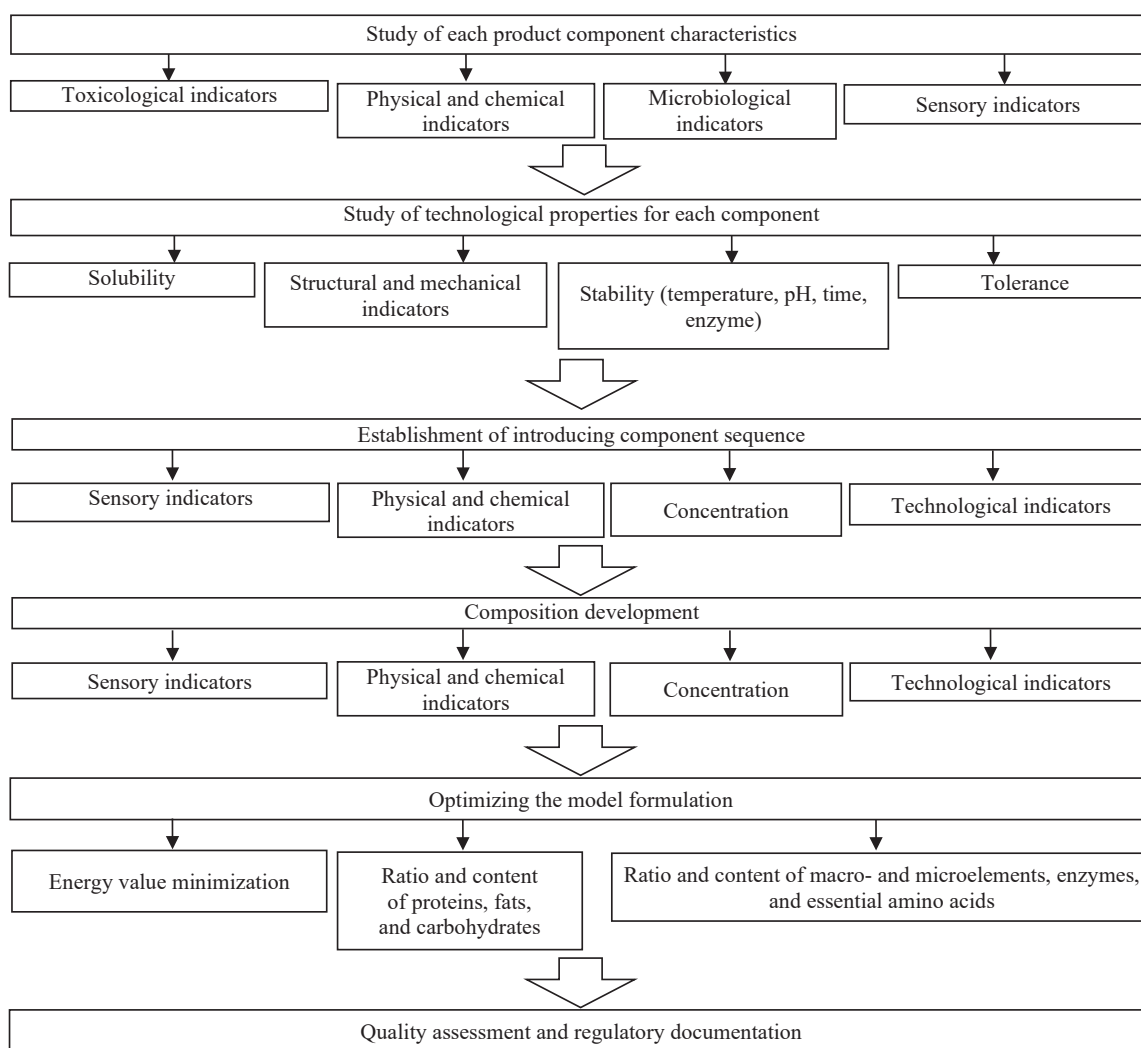


Figure 1. Methodological principles of food product development [33]

Рисунок 1. Методологические принципы проектирования продуктов питания [33]

than once. Moreover, the authors did not explain how to optimize the composition of the model formulation.

Trubina *et al.* adapted the algorithm to therapeutic meat products by introducing the stage of food additives that fortify the new product with micronutrients [35]. The authors stress the high complexity of component matching to provide the specified quality indicators. To solve this problem, they propose to apply mathematical planning, artificial intelligence, multidimensional scaling, cluster analysis, and, most important, data mining.

According to Lisitsyn *et al.*, to achieve the desired properties, food designers should start by specifying the methods of fortification/elimination, food combinatorics, optimization of heat treatment modes, etc. (Fig. 2) [36].

Lisitsyn *et al.* saw enzymatic tenderization, *in vivo* modification, and animal welfare optimization as particularly promising methods for obtaining new functional products [36].

Ursachi *et al.* pursued the same strategy but added some promising food processing technologies, e.g., ultrasonic treatment, high pressure and cold plasma, fortification of meat products with pro- and prebiotics, etc. [37]. In theory, this list could be augmented with radurization and microwave treatment, which are gaining popularity as means of defrosting meat bulks. Despite the extensive methodological and theoretical studies, these technical solutions cannot become mainstream in the domestic meat processing industry and require additional research [38–44].

Kalinin & Potoroko declared the priority of biologically active additives that make food products functional (Fig. 3) [22]. Their approach attached particular importance to the way micronutrients are delivered and chemically transformed in all structural elements of the food matrix during technological processing, storage, and digestion. The algorithm also included

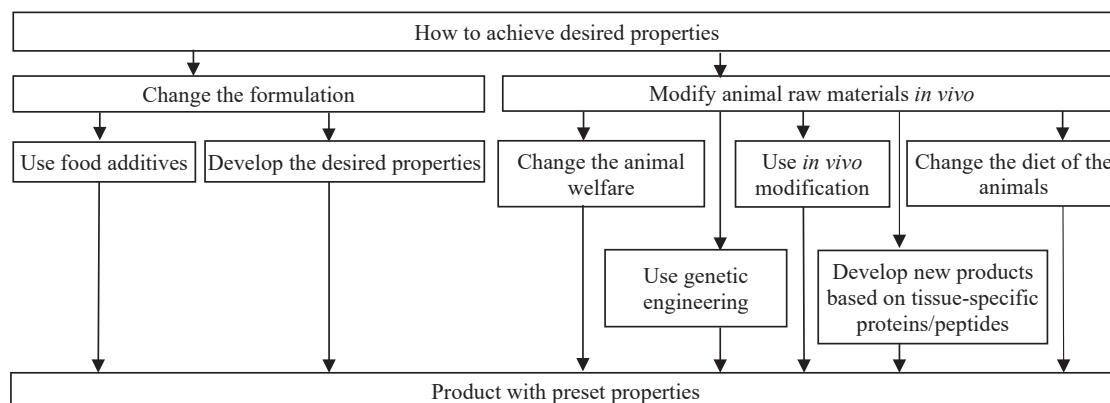


Figure 2. Developing meat products with preset properties [36]

Рисунок 2. Разработка продуктов питания на мясной основе с заданными свойствами [36]

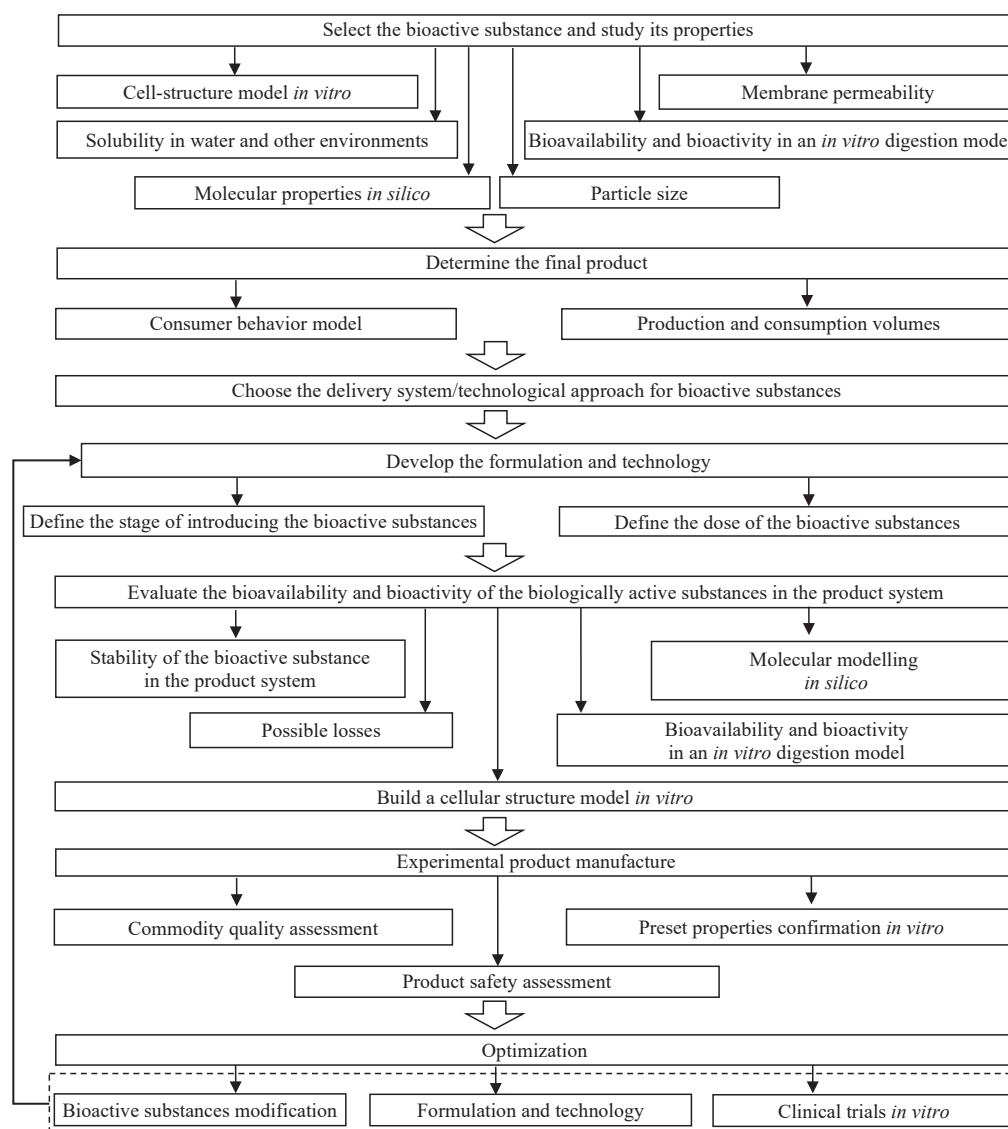


Figure 3. Methodology of integrated approach to healthy food production with proven effectiveness [22]

Рисунок 3. Методология интегрированного подхода производства продуктов для здорового питания с доказанной эффективностью [22]

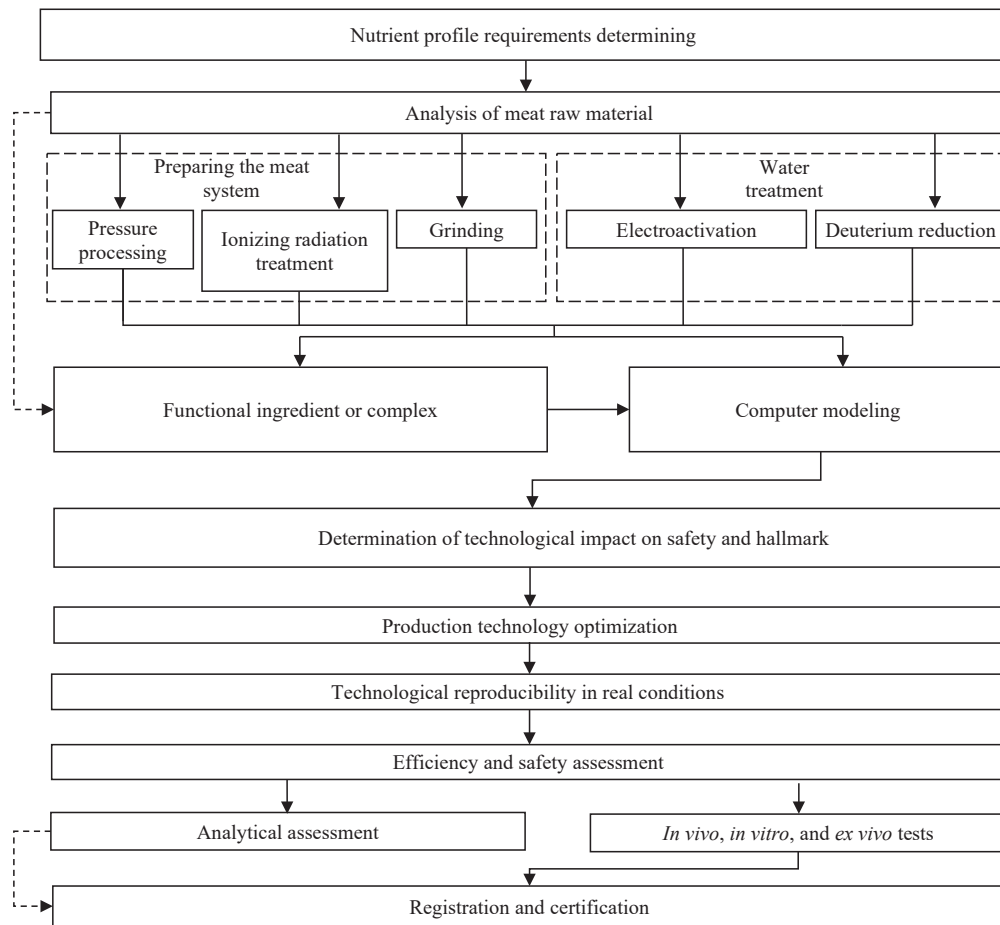


Figure 4. Methodology of functional meat products development [33]

Рисунок 4. Методология создания функциональных мясных продуктов [33]

the market promotion stage. The disadvantage of this approach is in the high economic costs of establishing the effectiveness of fortified foods.

Chemical and physiological compatibility of all ingredients is usually achieved by assessing the bioavailability and bioactivity of biologically active substances. Apparently, this stage presupposes determining the ingredient composition of the product under development. However, the scheme proposed by Kalinin & Potoroko postpones the formulation until the very final stage [22]. As a result, the only way to optimize the new formulation is either to appeal to an existing formulation or to modify a basic one, which is the main disadvantage of this algorithm.

Still, the method might appear quite effective for tailored diets. It is, however, hardly applicable to mass consumption products because the multiple trials and product tests are expensive. Again, the authors failed to explain the optimization of structural properties, sensory profile, and material costs.

According to Dydykin, the degree to which the product satisfies human physiological needs can be defined

by assessing the nutrient potential of raw materials, their processing, and functional ingredients [34]. The nutrient profile of the new product depends on the biological value of the diet. Figure 4 illustrates another methodology for developing functional meat products.

Sijtsema *et al.* and Saguy & Taoukis offered a cyclic approach to product development as an alternative to the linear one [45, 46]. The cyclic approach presupposes a continuous interaction with consumers, resulting in a progressive product improvement. This algorithm makes it possible to identify the real consumer perception and avoid the subjectivity factor. However, it is consumer properties that are improved, not the biological value. If the product is not in demand, and the meat producers receives no feedback from customers, they have no data to improve the product.

Nikitina eliminated these disadvantages by focusing her method on a specific consumer or target group: in general, product development should follow diet development (Fig. 5) [12].

The method offered by Nikitina implies the optimization of structural, mechanical, functional, and tech-

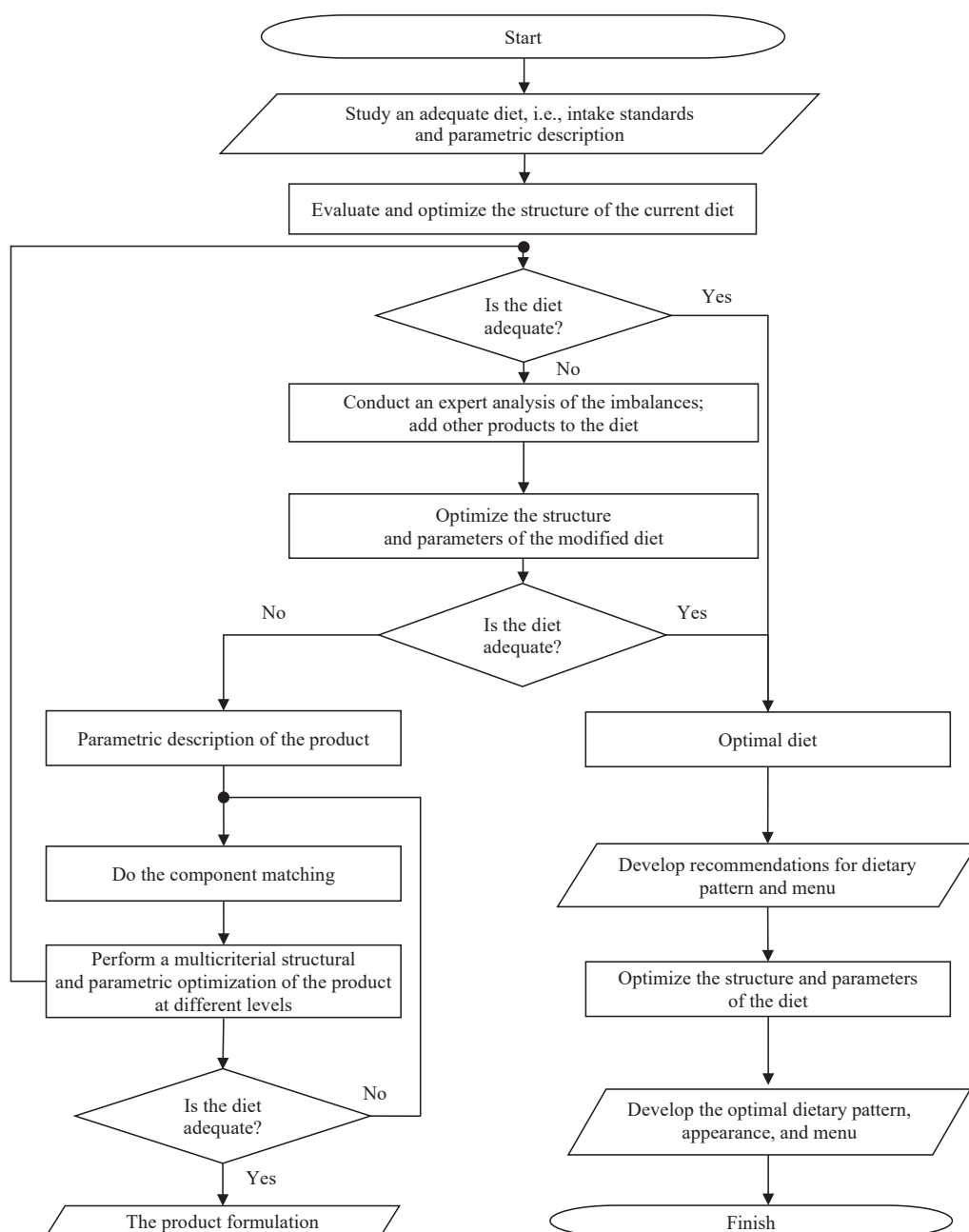


Figure 5. Algorithm for structural-parametric optimization [12]

Рисунок 5. Диалоговый алгоритм структурно-параметрической оптимизации [12]

nological indicators of the food system [12]. The search for optimal solutions employs mathematical models that reflect the functional relationships between the abovementioned indicators of raw ingredients and finished products, including the economic perspective. Product development relies on a digital twin, which copies the structural, functional, and technological properties of the ingredients, as well as the biochemical and colloidal kinetics that define the patterns of behavior of food systems triggered by the changes in various physical and chemical factors. Computer modeling pre-

dicts the energy, moisture, fat, carbohydrates, vitamins, microelements, proteins, and biological value in the designed product. Virtual imitations and trials help to choose the optimal formulation.

This approach needs no actual experimental trials, which makes it quite economical. On the other hand, it requires a constant update of factual information about the quality indicators of raw materials. If the software is integrated into a corporate information network, it needs an extensive database on the kinetics of biochemical and colloid-chemical processes.

Tailored approach to food development was also reported by Di Renzo *et al.*, Prosekov, and Prosekov *et al.*, who described a new scientific branch of omic science, which covers nutrigenetics, nutrigenomics, and proteomics [47–49]. It studies the relationship between food-related diseases and changes in human genotype and food preferences, the effect of various substances on genome, etc. These studies stress the importance of using nutrigenetic testing in food product development.

Conclusion

In case of complex meat systems, holistic forecasting depends on a great number of quality indicators, which require application of modern software. Effectiveness of approaches to formulating new meat products reviewed in this article depending on technology level of such advanced technologies. The current shortage of domestic software caused by the emigration of IT specialists hinders the introduction of technological solutions into meat product development.

Accurate forecasting of meat product quality requires relevant information about the actual physical, chemical, technological, and other indicators that characterize the behavior patterns of heterogeneous dispersed meat systems and their functional interrelationships. Meat producers can obtain this information either by collection data in real time or using existing datasets. The first option demands a thorough incoming control of raw materials within production process or in cooperation with third-party organizations,

which inevitably reduces the profitability. In this case, software integrated into the corporate information network can solve the problem. The second option is currently unavailable because most datasets are not publicly available or lacking. We offer the following solution: advanced express analysis equipment based on artificial intelligence or dynamic image analysis and free public databases updated by its users, like Wikipedia.org. In this case, even small meat processing plants will gain access to effective methods for modeling meat product formulations, which will raise their domestic and global competitiveness.

Contributions

The authors were equally involved in writing the manuscript and are responsible for any potential cases of plagiarism or self-plagiarism.

Conflict of interest

The authors declare that there is no conflict of interest regarding the publication of this article.

Критерии авторства

Авторы в равной степени участвовали в написании рукописи и несут ответственность за плагиат и самоплагиат.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов в связи с публикацией данной статьи.

References

1. Grahls S, Palanisamy M, Strack M, Meier-Dinkel L, Toepfl S, Morlein D. Towards more sustainable meat alternatives: How technical parameters affect the sensory properties of extrusion products derived from soy and algae. *Journal of Cleaner Production*. 2018;198:962–971. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2018.07.041>
2. Danilov YuD, Gorlov IF, Slozhenkina MI, Zlobina EYu, Slozhenkina AA, Mosolova DA. Studying the opportunity of extruded nute and wheat use in sausage products technology of increased biological values. *Proceedings of Lower Volga Agro-University Complex: Science and Higher Education*. 2018;50(2):257–270. (In Russ.). [Изучение возможности использования экструдированных нута и пшеницы в технологии колбасных изделий повышенной биологической ценности / Ю. Д. Данилов [и др.] // Известия Нижневолжского агроуниверситетского комплекса: Наука и высшее профессиональное образование. 2018. Т. 50. № 2. С. 257–270.]. <https://elibrary.ru/VOQSFJ>
3. Rodionova NS, Shchetilina IP, Korotkova KG, Cholin VA, Cherkasova NS, Torosyan AO. Prospects for the use of pulses in innovative technologies for functional food products. *Proceedings of the Voronezh State University of Engineering Technologies*. 2020;82(3):153–163. (In Russ.). <https://doi.org/10.20914/2310-1202-2020-3-153-163>
4. Kandyli P, Kokkinomagoulos E. Food applications and potential health benefits of pomegranate and its derivatives. *Foods*. 2020;9(2). <https://doi.org/10.3390/foods9020122>
5. Monteiro GC, Minatel IO, Junior AP, Gomez-Gomez HA, de Camargo JPC, Diamante MS, *et al.* Bioactive compounds and antioxidant capacity of grape pomace flours. *LWT*. 2021;135. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.110053>
6. Ubbink J. Materials science approaches towards food design. In: Bhandari B, Roos YH, editors. *Food materials science and engineering*. Blackwell Publishing Ltd; 2012. pp. 177–203. <https://doi.org/10.1002/9781118373903.ch7>
7. Kaur R, Sharma M. Cereal polysaccharides as sources of functional ingredient for reformulation of meat products: A review. *Journal of Functional Foods*. 2019;62. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2019.103527>
8. Han M, Bertram HC. Designing healthier comminuted meat products: Effect of dietary fibers on water distribution and texture of a fat-reduced meat model system. *Meat Science*. 2017;133:159–165. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2017.07.001>

9. Zolotin AYu, Simonenko SV, Antipova TA, Felik SV, Simonenko ES, Sedova AE. Food development methodology. Food Industry. 2019;11:50–55. (In Russ.). <https://doi.org/10.24411/0235-2486-2019-10177>
10. Statsenko ES, Kodirova GA. Development of recipes for enriched food concentrates for the second course using multivariate analysis. Achievements of Science and Technology in Agro-Industrial Complex. 2021;35(4):72–76. (In Russ.). <https://doi.org/10.24411/0235-2451-2021-10412>
11. Aggett PJ. Dose-response relationships in multifunctional food design: Assembling the evidence. International Journal of Food Sciences and Nutrition. 2012;63(1):37–42. <https://doi.org/10.3109/09637486.2011.636344>
12. Nikitina MA. Integration of digital technologies in the decision-making process in the development of food products with preset composition and properties. Dr. eng. sci. diss. Moscow: Moscow State University of Food Production; 2020. 265 p. (In Russ.). [Никитина М. А. Интеграция цифровых технологий в процесс принятия решений при разработке пищевых продуктов заданного состава и свойств: дис. ... д-ра техн. наук: 05.13.06. М., 2020. 265 с.]. <https://elibrary.ru/ZLLFOA>
13. Lipatov NN. Theory and practice of designing food systems based on the phenomenological approach. Izvestiya Vuzov. Food Technology. 1990;6:5–10. (In Russ.). [Липатов Н. Н. Принципы и методы проектирования рецептур пищевых продуктов, балансирующих рационы питания // Известия высших учебных заведений. Пищевая технология. 1990. № 6. С. 5–10.]. <https://elibrary.ru/PZMWCD>
14. Nikitina MA, Sus EB, Zavgorodneva DV. Information technologies in development of multicomponent meat products taking into account biological value. Vsyо о Myase. 2014;(4):48–51. (In Russ.). [Никитина М. А., Сусь Е. Б., Завгороднева Д. В. Информационные технологии в разработке многокомпонентных мясных продуктов с учетом биологической ценности // Все о мясе. 2014. № 4. С. 48–51.]. <https://elibrary.ru/SMEQUT>
15. Lisitsyn AB, Nikitina MA, Zakharov AN, Sus EB, Nasonova VV, Lebedeva LI. Prediction of meat product quality by the mathematical programming methods. Theory and Practice of Meat Processing. 2016;1(1):75–90. (In Russ.). <https://doi.org/10.21323/2414-438X-2016-1-1-75-90>
16. Lisin PA, Moliboga EA, Voronova TD, Savelyeva YuS, Kister IV. The compositional design of multicomponent foodstuff. Agrarian Bulletin of the Urals. 2013;118(12):42–46. (In Russ.). [Композиционное проектирование поликомпонентных продуктов питания / П. А. Лисин [и др.] // Аграрный вестник Урала. 2013. Т. 118. № 12. С. 42–46.]. <https://elibrary.ru/RPRXLL>
17. Fiszman S, Varela P. The satiating mechanisms of major food constituents – An aid to rational food design. Trends in Food Science and Technology. 2013;32(1):43–50. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2013.05.006>
18. Derevitskaya OK, Dydykin AS, Aslanova MA, Sergeev VN, Zokhrabyan PR. Development of a meat-based product for enteral nutrition. Problems of Nutrition. 2018;87(3):51–57. (In Russ.). <https://doi.org/10.24411/0042-8833-2018-10031>
19. Farouk MM, Yoo MJY, Hamid NSA, Staincliffe M, Davies B, Knowles SO. Novel meat-enriched foods for older consumers. Food Research International. 2018;104:134–142. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2017.10.033>
20. Nikitina MA, Sus EB. Information system of design of foodstuff. Vsyо о Myase. 2015;(1):36–39. (In Russ.). [Никитина М. А., Сусь Е. Б. Информационная система проектирования пищевых продуктов // Все о мясе. 2015. № 1. С. 36–39.]. <https://elibrary.ru/TJZFAL>
21. Neburchilova NF, Petrunina IV. Principles of determination of value in use for meat and meat products based on quality indicators — the coefficients of consumer properties. Theory and Practice of Meat Processing. 2016;1(3):81–95. (In Russ.). <https://doi.org/10.21323/2414-438X-2016-1-3-81-95>
22. Kalinina IV, Potoroko IYu. Methodological approaches to creation of enriched food products with proven efficiency. Bulletin of the South Ural State University. Series: Food and Biotechnology. 2019;7(1):5–11. (In Russ.). <https://doi.org/10.14529/food190101>
23. Nugmanov AKh-Kh. Theory and practice of designing food systems based on the phenomenological approach. Dr. eng. sci. diss. Krasnodar: Kuban State Technological University; 2017. 523 p. (In Russ.). [Нугманов А. Х.-Х. Теория и практика проектирования пищевых систем на основе феноменологического подхода: дис. ... д-ра техн. наук: 05.18.12. Краснодар, 2017. 523 с.]. <https://elibrary.ru/RCSVNP>
24. Semipyatnyy VK. Principles of meta-analytical decomposition in the formation of digital identification profiles of food systems. Dr. eng. sci. diss. Moscow: V.M. Gorbатов Federal Research Center for Food Systems of RAS; 2021. 345 p. (In Russ.). [Семипятный В. К. Принципы мета-аналитической декомпозиции при формировании цифровых идентификационных профилей пищевых систем: дис. ... д-ра техн. наук: 05.18.04. М., 2021. 345 с.].
25. Donskikh NV, Muratova EI, Tolstykh SG, Leonov DV. Development of an automated information system for the calculation and optimization of food formulations. Izvestiya Vuzov. Food Technology. 2011;320–321(2–3):122–123. (In Russ.). [Разработка автоматизированной информационной системы для расчета и оптимизации рецептур / Н. В. Донских [и др.] // Известия высших учебных заведений. Пищевая технология. 2011. Т. 320–321. № 2–3. С. 122–123.]. <https://elibrary.ru/NVWAIZ>

26. Cazarin CBB, Bicas JL, Marostica Junior MR. 1st international congress bioactive compounds 2018 – Food design and health nutrition. Food Research International. 2020;134. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2020.109224>
27. Oliviero T, Fogliano V. Food design strategies to increase vegetable intake: The case of vegetable enriched pasta. Trends in Food Science and Technology. 2016;51:58–64. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2016.03.008>
28. Konishi Y. Food design system for sea foods based on functionality and texture. Nippon Suisan Gakkaishi. 2008;74(2):257–258. <https://doi.org/10.2331/suisan.74.257>
29. Nikiforova AP, Damdinova TTs. Quality assessment of meat products by digital image processing. Production Quality Control. 2019;(3):32–38. (In Russ.). [Никифорова А. П., Дамдинова Т. Ц. Оценка качества мясных продуктов методом цифровой обработки изображений // Контроль качества продукции. 2019. № 3. С. 32–38.]. <https://elibrary.ru/YYFBOX>
30. Nikiforova AP, Damdinova TTs, Stolyarova AS. The study of organoleptic properties of fish products with the use of digital images processing. The Bulletin of ESSTUM. 2018;71(4):135–142. (In Russ.). [Никифорова А. П., Дамдинова Т. Ц., Столярова А. С. Изучение органолептических свойств рыбных продуктов с применением методов цифровой обработки изображений // Вестник ВСГУТУ. 2018. Т. 71. № 4. С. 135–142.]. <https://elibrary.ru/AVWACY>
31. Damdinova TTs, Nikiforova AP, Prudova LYu, Bubeev IT. The use of digital image processing methods to determine the moisture-binding capacity of meat and fish products. Software Systems and Computational Methods. 2019;(3):20–29. (In Russ.). <https://doi.org/10.7256/2454-0714.2019.3.30646>
32. Karpov VI, Portnov NM. Optimization of the recipe composition of a food product. System analysis in design and management: Proceedings of the XXIV International Research and Academic Conference; 2020; St. Petersburg. St. Petersburg: Politekh-Press; 2020. p. 169–182. (In Russ.). <https://doi.org/10.18720/SPBPU/2/id20-164>
33. Razumovskaja RG, Tsibizova ME, Kilmaev AA. Methodological principles of project of the functional food stuffs. Food Industry. 2011;(8):12–14. (In Russ.). [Разумовская Р. Г., Цибизова М. Е., Кильмаев А. А. Методологические принципы проектирования функциональных продуктов питания // Пищевая промышленность. 2011. № 8. С. 12–14.]. <https://elibrary.ru/OHFXOV>
34. Dydykin AS. Developing scientific and practical foundations for new functional and specialized meat products based on the assessment of technological impact on their quality and safety. Dr. eng. sci. diss. Moscow: V.M. Gorbатов Federal Research Center for Food Systems of RAS; 2022. 379 p. (In Russ.). [Дыдыкин А. С. Развитие научно-практических основ создания функциональных и специализированных мясных продуктов с учетом оценки влияния способов технологического воздействия на их качество и безопасность: дис. ... д-ра техн. наук: 05.18.04. М., 2022. 379 с.].
35. Shchedrina TV, Sadovoy VV, Trubina IA. Optimization of the prescription of foods for preventive nutrition. Modern Science and Innovations. 2018;24(4):149–157. (In Russ.). <https://doi.org/10.33236/2307-910X-2018-4-24-149-157>
36. Lisitsyn AB, Chernukha IM, Lunina OI, Fedulova LV. Legislative foundations and scientific principles of developing meat-based functional foods. Bulletin of Altai State Agricultural University. 2016;146(12):151–158. (In Russ.). [Законодательные основы и научные принципы создания функциональных пищевых продуктов на мясной основе / А. Б. Лисицын [и др.] // Вестник Алтайского государственного аграрного университета. 2016. Т. 146. № 12. С. 151–158.]. <https://elibrary.ru/XDRUPV>
37. Ursachi CS, Perța-Crișan S, Munteanu F-D. Strategies to improve meat products' quality. Foods. 2020;9(12). <https://doi.org/10.3390/foods9121883>
38. Lebedeva EYu, Kasyanov GI. Innovative technologies for processing combined fish and vegetable raw materials. Vestnik of Astrakhan State Technical University. 2022;74(2):24–30. (In Russ.). <https://doi.org/10.24143/1812-9498-2022-2-24-30>
39. Krasulya ON, Gurin AV, Skorikov MA, Kazakova EV. A cooked smoked sausage technology with the use of sonochemical effects to intensify raw material curing. Meat Industry. 2021;(6):37–41. (In Russ.). <https://doi.org/10.37861/2618-8252-2021-06-37-41>
40. Minaev MYu, Mahova AA, Pchelkina VA. Production of recombinant metalloprotease of use for meat industry. Food Industry. 2019;(1):64–68. <https://elibrary.ru/YXHEXR>
41. Ryazantseva AO. Sausage breads and chopped semi-finished meat products with improved consumer properties based on protein-carbohydrate plant compositions. Cand. eng. sci. diss. Moscow: K.G. Razumovsky Moscow State University of Technologies and Management; 2019. 215 p. (In Russ.). [Рязанцева А. О. Проектирование колбасных хлебов и мясных рубленых полуфабрикатов с улучшенными потребительскими характеристиками на основе белково-углеводных растительных композиций: дис. ... канд. техн. наук: 05.18.15. М., 2019. 215 с.]. <https://elibrary.ru/WMNLEB>
42. Ayyash M, Liu S-Q, Al Mheiri A, Aldaheri M, Raiesi B, Al-Nabulsi A, et al. In vitro investigation of health-promoting benefits of fermented camel sausage by novel probiotic *Lactobacillus plantarum*: A comparative study with beef sausages. LWT. 2019;99:346–354. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2018.09.084>

43. Tikhonov SL, Tikhonova NV, Moskalenko NYu, Kudryashova OA, Kudryashov LS. Development of a device for increasing the storage duration of food products by processing with low-temperature gas plasma. *Polzunovskiy Vestnik*. 2021;(1):74–83. (In Russ.). <https://doi.org/10.25712/ASTU.2072-8921.2021.01.010>
44. Karpov VI, Krasulia ON, Tokarev AV. Artificial intelligence in a technological production system of the set quality. *Proceedings of the Voronezh State University of Engineering Technologies*. 2017;79(1):106–113. (In Russ.). <https://doi.org/10.20914/2310-1202-2017-1-106-113>
45. Sijtsema SJ, Fogliano V, Hageman M. Tool to support citizen participation and multidisciplinary in food innovation: Circular food design. *Frontiers in Sustainable Food Systems*. 2020;4. <https://doi.org/10.3389/fsufs.2020.582193>
46. Saguy S, Taoukis PS. From open innovation to *enginomics*: Paradigm shifts. *Trends in Food Science and Technology*. 2017;60:64–70. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2016.08.008>
47. Di Renzo L, Gualtieri P, Romano L, Marrone G, Noce A, Pujia A, *et al.* Role of personalized nutrition in chronic-degenerative diseases. *Nutrients*. 2019;11(8). <https://doi.org/10.3390/nu11081707>
48. Prosekov AYU. The methodology of food design. Part 1. The individual aspect. *Theory and Practice of Meat Processing*. 2020;5(4):13–17. <https://doi.org/10.21323/2414-438X-2020-5-4-13-17>
49. Prosekov AYU, Vesnina AD, Kozlova OV. The methodology of food design. Part 2. Digital nutritiology in personal food. *Theory and Practice of Meat Processing*. 2021;6(4):328–334. <https://doi.org/10.21323/2414-438X-2021-6-4-328-334>

<https://doi.org/10.21603/2074-9414-2023-4-2472>
<https://elibrary.ru/TIDAKC>

Оригинальная статья
<https://fptt.ru>

Антибиотикорезистентность *Enterobacteriaceae* в микробиомах цыплят-бройлеров



А. С. Кривоногова^{ID}, И. М. Донник^{ID}, А. Г. Исаева*^{ID},
Е. А. Логинов^{ID}, М. В. Петропавловский^{ID}, Е. Н. Беспамятных^{ID}

Уральский государственный аграрный университет^{ROR}, Екатеринбург, Россия

Поступила в редакцию: 17.05.2023

Принята после рецензирования: 20.06.2023

Принята к публикации: 04.07.2023

*А. Г. Исаева: isaeva.05@bk.ru,

<https://orcid.org/0000-0001-8395-1247>

А. С. Кривоногова: <https://orcid.org/0000-0003-1918-3030>

И. М. Донник: <https://orcid.org/0000-0001-8349-3004>

Е. А. Логинов: <https://orcid.org/0009-0007-0810-8365>

М. В. Петропавловский: <https://orcid.org/0000-0002-9892-6092>

Е. Н. Беспамятных: <https://orcid.org/0000-0003-4347-6554>

© А. С. Кривоногова, И. М. Донник, А. Г. Исаева,
Е. А. Логинов, М. В. Петропавловский, Е. Н. Беспамятных, 2023



Аннотация.

Постоянное применение антибиотиков в нетерапевтических целях привело к тому, что представители родов *Escherichia*, *Enterobacter*, *Klebsiella* и *Proteus* являются резервуарами для генетических детерминант резистентности и способствуют распространению резистентности и контаминации сырья и продукции. Сегодня учеными ведется поиск альтернативных антибиотикам средств сохранения здоровья и поддержания высокой продуктивности птицы – про- и фитобиотиков, органических кислот и др. Целью работы являлось изучение влияния применения антибиотика и фитобиотика на энтеропатогенные бактерии в микробиомах цыплят-бройлеров.

Мы провели опыт *in vitro* с культивированием стандартного штамма *Escherichia coli* на питательных средах, содержащих антибиотики в подпороговых концентрациях в течение 37 суток. Оценили влияние низких доз антибиотиков на чувствительность изолятов. Исследовали микробиоценозы цыплят-бройлеров, получавших в качестве добавки к рациону антибиотик авиламицин А и фитобиотик на основе *Brassica juncea*, *Linum usitatissimum* и *Nigella sativa* L. Изучили видовой состав условно-патогенных *Enterobacteriaceae*, фенотипическую чувствительность к антибиотикам и генетические детерминанты резистентности. Провели анализ антимикробного потенциала фитобиотиков.

Культивирование *in vitro* стандартных штаммов *E. coli* в присутствии антибиотиков в дозах ниже минимальных показало, что на протяжении 37 суток резистентность к антибиотикам не развивалась. В смывах и образцах подстилки всех групп цыплят-бройлеров преобладали условно-патогенные грамотрицательные бактерии порядка *Enterobacterales*. На долю *E. coli*, *Klebsiella pneumoniae* и *Proteus mirabilis* приходилось более 30 % от всех выделенных штаммов. Введение в рацион бройлеров авиламицина А и фитобиотика повлияло на кокковую микрофлору и не сказалось на динамике родовидового состава *Enterobacteriaceae*. Изоляты *K. pneumoniae* имели высокий уровень фенотипической устойчивости к ципрофлоксацину и содержали гены blaDNA. Микробиота подстилки имеет значение в сохранении и циркуляции агентов резистентности при содержании бройлеров. Наименьший уровень устойчивости к ципрофлоксацину мы выявили в группе цыплят, которые получали только фитобиотик, наибольший – в группе с авиламицином А.

На коротких временных отрезках, сопоставимых со сроком выращивания бройлеров до убоя, изолированные *in vitro* бактерии, которые не имеют в геноме активных детерминант резистентности, сохраняют чувствительность к антибиотикам даже при постоянном контакте с ними. Применение фитобиотиков перспективно в технологии выращивания бройлеров в качестве дополнения к существующим рационам для снижения (отказа) количества применяемых кормовых антибиотиков.

Ключевые слова. Антибиотикорезистентность, энтеробактерии, антибиотик, фитобиотик, микробиом, бройлеры

Финансирование. Исследование выполнено при финансовой поддержке Российского научного фонда (РНФ)^{ROR}, грант № 18-16-00040.

Для цитирования: Антибиотикорезистентность *Enterobacteriaceae* в микробиомах цыплят-бройлеров / А. С. Кривоногова [и др.] // Техника и технология пищевых производств. 2023. Т. 53. № 4. С. 710–717. <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2023-4-2472>

Antibiotic Resistance of *Enterobacteriaceae* in Microbiomes Associated with Poultry Farming



Anna S. Krivonogova^{ORCID}, Irina M. Donnik^{ORCID},
Albina G. Isaeva*^{ORCID}, Egor A. Loginov^{ORCID},
Maxim V. Petropavlovskiy^{ORCID}, Elisey N. Bepamyatnykh^{ORCID}

Ural State Agrarian University^{ORCID}, Yekaterinburg, Russia

Received: 17.05.2023
Revised: 20.06.2023
Accepted: 04.07.2023

*Albina G. Isaeva: isaeva.05@bk.ru,
<https://orcid.org/0000-0001-8395-1247>
Anna S. Krivonogova: <https://orcid.org/0000-0003-1918-3030>
Irina M. Donnik: <https://orcid.org/0000-0001-8349-3004>
Egor A. Loginov: <https://orcid.org/0009-0007-0810-8365>
Maxim V. Petropavlovskiy: <https://orcid.org/0000-0002-9892-6092>
Elisey N. Bepamyatnykh: <https://orcid.org/0000-0003-4347-6554>

© A.S. Krivonogova, I.M. Donnik, A.G. Isaeva,
E.A. Loginov, M.V. Petropavlovskiy, E.N. Bepamyatnykh, 2023



Abstract.

Antibiotics have long been overused for non-therapeutic purposes. As a result, *Escherichia*, *Enterobacter*, *Klebsiella*, and *Proteus* in avian microbiomes have become reservoirs for genetic determinants of resistance, thus spreading resistance to antibiotics and contaminating raw materials and finished products. The food industry is looking for alternative means to preserve health and maintain high productivity of commercial poultry, e.g., probiotics, phytobiotics, organic acids, etc. The research featured the effect of antibiotics and phytobiotics on enteropathogenic bacteria in the microbiomes of broiler chicken.

Escherichia coli bacteria were cultivated *in vitro* in subthreshold concentrations on nutrient media with antibiotics for 37 days to study the effect of low doses of antibiotics on the sensitivity of isolates. The study involved microbiocenoses of broiler chicken that received avilamycin A and a phytobiotic based on *Brassica juncea*, *Linum usitatissimum*, and *Nigella sativa* L. A set of experiments covered the species composition of opportunistic *Enterobacteriaceae*, the phenotypic sensitivity to antibiotics, and the genetic determinants of resistance, as well as the antimicrobial potential of phytobiotics.

E. coli developed no resistance for 37 days when the antibiotic dose remained below minimal inhibitory. Opportunistic gram-negative *Enterobacterales* predominated in all litter samples. *E. coli*, *Klebsiella pneumoniae*, and *Proteus mirabilis* accounted for more than 30% of all isolated strains. Avilamycin A and the phytobiotic affected the coccal microflora but had no effect on the genus-species composition of *Enterobacteriaceae*. Litter samples from both experimental and control groups demonstrated *K. pneumoniae* with severe phenotypic resistance to ciprofloxacin, as well as blaDHA genes. In broiler farming, maintenance and circulation of resistance agents depends on litter microbiota. In this research, the chicken that received the phytobiotic showed the lowest level of resistance to ciprofloxacin while the groups that received avilamycin A had the highest resistance results.

During a broiler's life span, bacteria with no active resistance determinants in their genome remained sensitive to antibiotics, even though the contact with the latter was constant. Phytobiotics showed good prospects for broiler farming as food additive that could reduce and eventually eliminate the intake of antibiotics.

Keywords. Antibiotic resistance, enterobacteria, antibiotic, phytobiotic, microbiome, broilers

Funding. The research was supported by the Russian Science Foundation (RSF)^{ORCID}, Project No. 18-16-00040.

For citation: Krivonogova AS, Donnik IM, Isaeva AG, Loginov EA, Petropavlovskiy MV, Bepamyatnykh EN. Antibiotic Resistance of *Enterobacteriaceae* in Microbiomes Associated with Poultry Farming. Food Processing: Techniques and Technology. 2023;53(4):710–717. (In Russ.). <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2023-4-2472>

Введение

Использование антибиотиков в животноводстве и птицеводстве в качестве профилактических или стимулирующих продуктивность добавок и недостаточное внимание к циркулирующей на предприятиях

условно-патогенной микрофлоре привели к контаминации животноводческих микробиомов агентами антимикробной резистентности [1]. Распространение устойчивости ассоциировано с механизмами горизонтального переноса генов и реализуется с

помощью контактов между микробиоценозами в смежных экологических нишах [2, 3]. Микробиомы продуктивных животных и птицы являются благоприятными для формирования и распространения антимикробной резистентности биотопами. Циркулирующие на животноводческих объектах резистентные штаммы условно-патогенных бактерий представляют эпидемиологическую угрозу. Это связано с возможной контаминацией микробиома человека через контакты с животными, особенно для персонала предприятий, или за счет миграции агентов резистентности по пищевой цепи через животное сырье: яйцо, мясо, молоко и др. [4–8].

Среди условно-патогенных бактерий, населяющих желудочно-кишечный тракт теплокровных, значение имеют представители порядка *Enterobacterales*: *Escherichia*, *Enterobacter*, *Klebsiella* и *Proteus*. Распространение генетических детерминант резистентности в популяциях *Escherichia coli* может приводить к передаче антимикробной резистентности по технологическим цепям на животноводческих и птицеводческих предприятиях [5, 9]. Устойчивость *E. coli* к антибактериальным препаратам обусловлена как природной резистентностью микроорганизма к основным клинически значимым антибиотикам, так и реализацией генетически детерминированных молекулярных механизмов, приобретенных за счет горизонтального переноса кодирующих их носителей генетической информации [10–12]. По скорости формирования приобретенной резистентности плазмидный или транспозонный тип (быстрый) превосходит хромосомный. Хромосомный тип включает мутации, которые появляются с обычной частотой (около 10 %) и могут занять примерно 5–10 лет при постоянном использовании одного и того же антибиотика [3]. Быстрый механизм распространения антимикробной резистентности является основным в птицеводческих и животноводческих микробиомах.

Продуктивные животные и птица являются источником штаммов энтеробактерий *E. coli*, *Klebsiella* и *Salmonella*, которые продуцируют β -лактамазы расширенного спектра, обусловленные наличием мобильных генов AmpC [13, 14]. Наиболее распространенные группы β -лактамазы расширенного спектра, выявленные у энтеропатогенных бактерий, ассоциированы с наличием генов CTX-M, CMY, TEM и SHV [9, 15, 16]. Устойчивость *Enterobacteriaceae* к карбапенемам ассоциируют с наличием у бактерий детерминант OXA, VIM, KPC, NDM и IMP, кодирующих синтез карбапенемаз [17]. Наличие β -лактамаз у энтеробактерий также является фактором устойчивости к цефалоспорином III и IV поколения. Гены, кодирующие эти ферменты, локализованы на плазмидах, поэтому легко распространяются в популяциях бактерий. Также эти гены способны к межвидовой передаче. Возможна передача ассоциаций генов, обуславливающая сочетание резистентности к

бета-лактамам и другим антибиотикам. Например, фторхинолонам и аминогликозидам [18].

В качестве альтернативы профилактическим и стимулирующим антимикробным добавкам используют фитобиотики. Действующие вещества фитобиотиков – вторичные растительные метаболиты – имеют широкий спектр физиологических эффектов и не вызывают развития резистентности у бактерий. Фитобиотики можно использовать против бактерий, которые имеют устойчивость к антибиотикам, и в профилактических целях [19, 20].

Актуальными являются исследование энтеропатогенных бактерий, ассоциированных с птицеводческими микробиомами, и изучение влияния фитобиотиков на характеристики бактерий.

Объекты и методы исследования

Мы провели анализ характеристики антибиотикочувствительности энтеропатогенных бактерий в микробиомах, ассоциированных с цыплятами бройлерами. Оценили темпы развития резистентности представителей *Enterobacteriaceae* в условиях опыта и *in vitro*. Проанализировали влияние добавок фитобиотиков и антибиотиков в рацион бройлеров на видовой состав и фенотипическую антибиотикочувствительность *Escherichia coli* и *Klebsiella pneumoniae* в биоматериале от цыплят. Изучили генетические детерминанты резистентности в микробиомах.

120 цыплят-бройлеров возрастом 1 сутки разделили на 4 группы и выращивали до возраста убоя. Большинство промышленных технологий содержания бройлеров подразумевает убой на 37 сутки, реже – на 56 сутки. В экспериментальных целях цыплят содержали на протяжении 56 суток для более детального наблюдения за динамикой микробиома.

Все группы были сформированы из клинически здоровых цыплят одного кросса (Росс 308) и вывода, распределенных случайным образом. Цыплята находились в одинаковых технологических условиях, получали стандартный рацион, соответствующий возрасту и этапу выращивания, имели свободный доступ к воде.

Группы содержались в отдельных лабораторно-производственных помещениях для исключения обмена микрофлорой между группами; тип содержания напольный. В каждом помещении находились подстилки, которые состояли из опила (доля хвойных пород 70 %, лиственных 30 %, ГОСТ 18320-78). Смену подстилки на протяжении опыта проводили 1 раз в 10 дней. Полную дезинфекцию помещений провели перед посадкой цыплят, дезинфекцию опила и промежуточную дезинфекцию помещений не проводили.

Группы № 1 и 2 получали антимикробную добавку к рациону, содержащую антибиотик авиламицин А, который относится к ортозомицинам (Максус G-100, Eli Lilly and Company, USA). Доля антибиотика была

стандартной; она рекомендована производителем для профилактики и стимуляции продуктивности в птицеводстве (300 г на тонну корма). Группы № 2 и 3 получали фитобиотик на основе масляных эмульсий *Brassica juncea*, *Linum usitatissimum* и *Nigella sativa* L. (производства НИИСХ, Крым) в течение 21 дня 1 раз в сутки в количестве 50 мл на 1 кг корма.

Мы провели исследование микрофлоры подстилки и смывы с клоаки цыплят, определили родовой состав условно-патогенных микроорганизмов и проанализировали фенотипическую антибиотикочувствительность обнаруженных изолятов *Enterobacteriaceae*.

Бактерии культивировали стандартными микробиологическими методами на питательных средах, выделяли чистые линии и идентифицировали методом MALDI-TOF (Vitek MS, BioMerieux, France). Бактериальную массу наносили на спот слайда, покрывали 1 мкл матрицы (α -циано-3-гидроксикоричная кислота) и высушивали при комнатной температуре. Затем считывали масс-спектры рибосомальных белков и сравнивали с базой данных с использованием программного обеспечения Mula.

Фенотипическую антибиотикочувствительность определяли диско-диффузионным методом и методом минимальной подавляющей концентрации по стандартной методике (EUCAST), а также с использованием инструкций к тест-системам.

Исследование темпов развития антибиотикорезистентности *in vitro* проводили на модельных культурах *E. coli* стандартных штаммов ATCC 25922 (лиофилизированная культура микроорганизма KWIK-STIK, Microbiologics, США). Определили минимальную ингибирующую концентрацию ципрофлоксацина, меропенема, цефепима и ампициллина. На протяжении 37 суток культивировали *E. coli* на питательных средах с добавлением указанных антибиотиков в меньшей концентрации, чем минимальная подавляющая. Затем повторно оценили чувствительность изолятов к антибиотикам методом последовательных разведений (с определением минимальной подавляющей концентрации).

Для оценки контаминации микробиоценозов генетическими детерминантами резистентности проводили анализ культур методом Real-time PCR (анализатор QuantStudio 5, США). Для выявления ДНК *E. coli*, blaCTX-M и blaOXA10 генов резистентности грамотрицательных бактерий к цефалоспорином использовали наборы реагентов «РЕЗИСТОМ.ESBL-*E.coli*»; для выявления ДНК *K. pneumoniae*, blaKPS и blaOXA48-like генов резистентности грамотрицательных бактерий к карбапенемам – «РЕЗИСТОМ.CRE-*Klebsiella*»; для выявления blaDHA гена резистентности к защищенным пенициллинам и цефалоспорином – «РЕЗИСТОМ.DHA» («Изоген» и «Литех», РФ).

Статистическую обработку данных проводили с использованием Statistica 10.

Результаты и их обсуждение

Результаты исследований смывов с клоаки и образцов подстилки показали, что условно-патогенное ядро микробиоценоза представлено грамотрицательными бактериями (59,18 %). Грамположительные бактерии составили 22,45 %, грибы – 18,37 %. Преобладали грамотрицательные бактерии порядка *Enterobacterales*: на долю *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* и *Proteus mirabilis* приходилось около 41 % от всех выделенных штаммов. Отметим изменения видового состава, но тенденции к преобладанию грамотрицательных бактерий и превалированию среди них *Klebsiella* и *Escherichia* сохранилась (рис. 1 и 2). Разницы между группами в динамике грамотрицательной флоры не выявили. При микробиологическом исследовании биоматериала смывов и подстилки ни в одной из групп не были обнаружены патогенные бактерии рода *Salmonella*.

В рамках исследования на модельных культурах определили минимальную подавляющую концентрацию ципрофлоксацина, меропенема, цефепима и ампициллина для стандартного штамма *E. coli* (ATCC 25922). Эти изоляты культивировали на протяжении 37 суток на средах, содержащих указанные антибиотики в концентрациях меньше, чем минимальная ингибирующая. Это соответствует типовому сроку содержания бройлеров в промышленных условиях от момента вывода до убоя. Установили, что штаммы *E. coli* ATCC 25922 (дикий тип, каталаза – положительный, оксидаза – отрицательный, подвижность – положительный, бета-лактамаза – отрицательный, индол – положительный) были чувствительны к ципрофлоксацину в минимальной подавляющей концентрации 0,06–0,12 мг/л, к меропенему – 0,12 мг/л, к цефепиму – 0,5 мг/л, к ампициллину – 2–4 мг/л на протяжении всего исследования (рис 3).

При данных условиях резистентность к использованным антибиотикам не развивалась. Это связано с тем, что использованные стандартные штаммы не имели в геноме активных детерминант резистентности, а из-за отсутствия контактов с другими микроорганизмами горизонтальный перенос генов не происходил. В естественных микробиомах постоянно происходит обмен мобильными элементами резистомы за счет горизонтального переноса генов. Это способствует быстрому формированию резистентности у микроорганизмов.

Анализ антибиотикочувствительности *E. coli*, выделенных из смывов с клоаки цыплят и образцов подстилки во всех группах на разных этапах выращивания, показал, что все изоляты были чувствительны к ампициллину и ципрофлоксацину – минимальная подавляющая концентрация 2,0–4,0 и 0,06–0,12 мг/л соответственно. В тестах с меропенемом около 74 % изолятов были чувствительны к минимальной подавляющей концентрации 0,06 мг/л. 100 % изолятов чувствительны к минимальной подавляющей

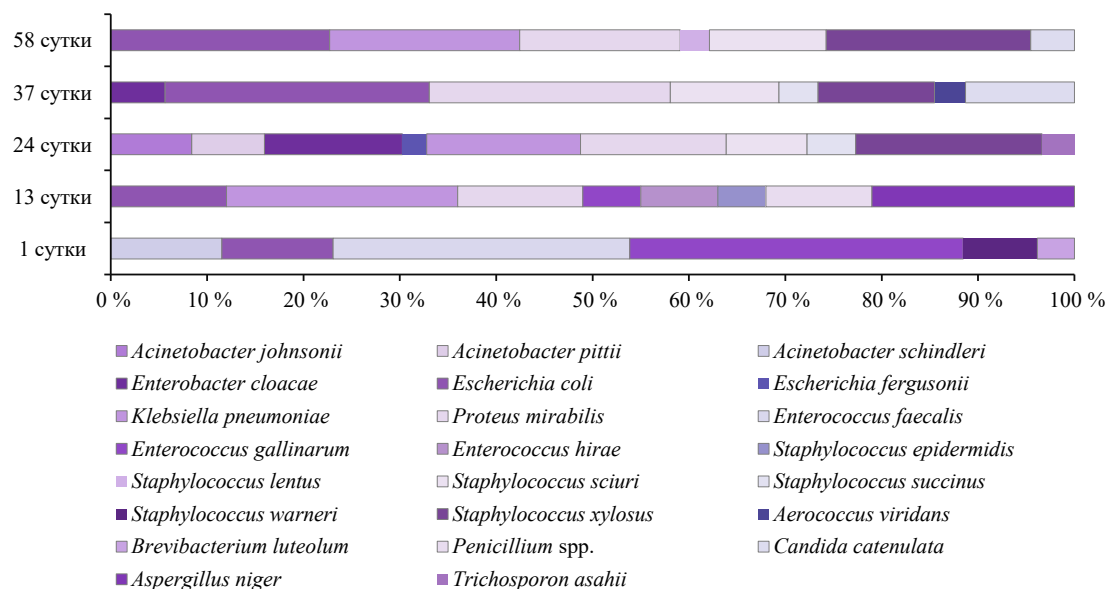


Рисунок 1. Изменения микробного пейзажа в смывах с клоаки цыплят в группах № 1–4

Figure 1. Microflora in chicken cloaca swabs, groups No. 1–4

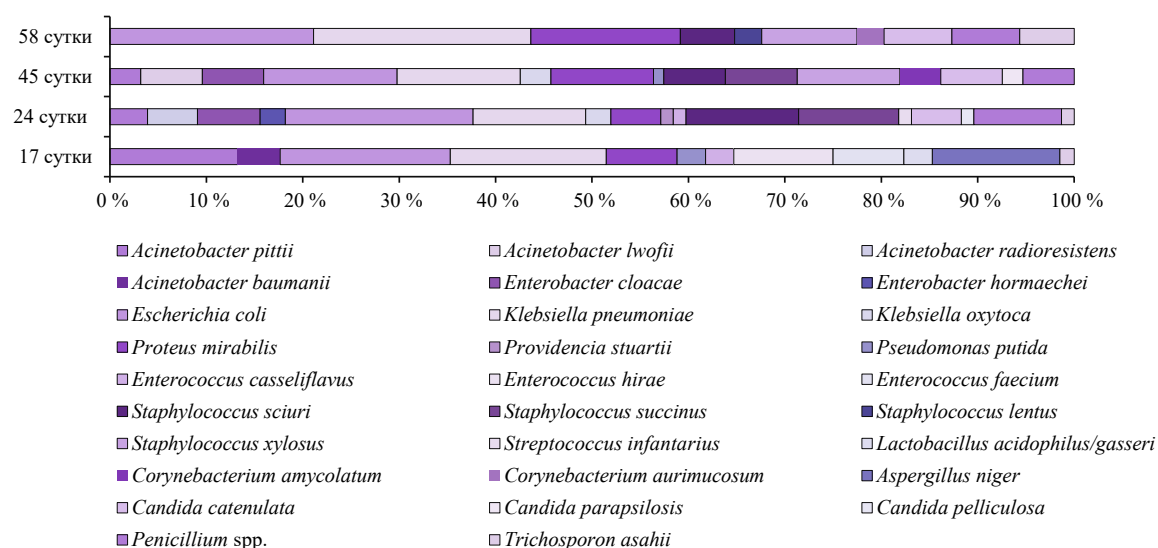


Рисунок 2. Изменения микробного пейзажа в образцах подстилки цыплят в группах № 1–4

Figure 2. Microflora in chicken litter samples, groups 1–4

концентрации 0,12 мг/л. К цефепиму с минимальной подавляющей концентрацией 0,125 мг/л была чувствительна половина изолятов *E. coli*. 100 % были восприимчивы к минимальной подавляющей концентрации 0,5 мг/л. Все указанные значения минимальной подавляющей концентрации относятся к значению «чувствительные» (S) в соответствии с экспертными правилами EUCAST на текущий год (рис. 4).

Из всех протестированных штаммов *K. pneumoniae* из разных групп 84 % были резистентны к ципрофлоксацину (с минимальной подавляющей концент-

рацией от 1,0 до 2,0 мг/л), 16 % были чувствительны к антибиотику (с минимальной подавляющей концентрацией 0,25 мг/л). Наибольшее количество чувствительных изолятов выявили в группе № 3, наибольшее количество резистентных при максимальной исследованной минимальной подавляющей концентрации – в группе № 2. Все выделенные штаммы *K. pneumoniae* были устойчивы к ампицилину (с минимальной подавляющей концентрацией от 16,0 до 64,0 мг/л). Это согласуется с имеющимися в литературе данными о природной устойчивости

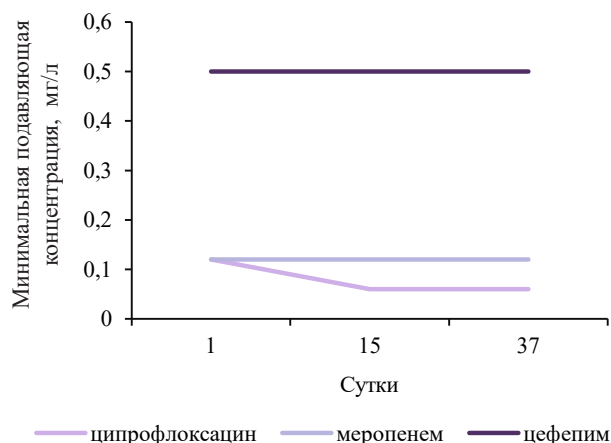


Рисунок 3. Антибиотикочувствительность *Escherichia coli* (ATCC 25922) при культивировании на средах с добавлением антибиотиков в концентрациях ниже минимальной подавляющей

Figure 3. Antibiotic sensitivity of *Escherichia coli* (ATCC 25922) cultured on media with antibiotics at concentrations below minimal inhibitory

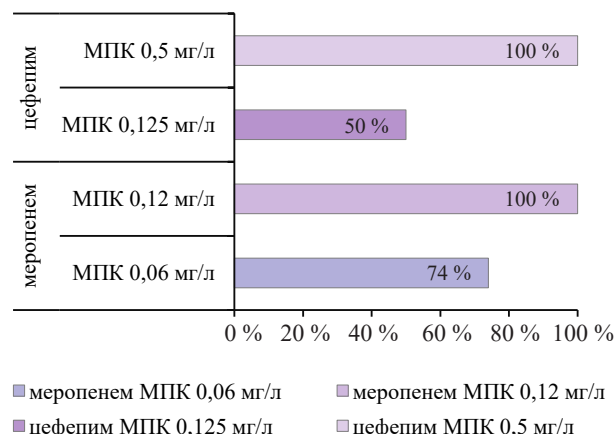


Рисунок 4. Распределение чувствительности изолятов *Escherichia coli* к меропенему и цефепиму в зависимости от минимальной подавляющей концентрации (МПК)

Figure 4. Susceptibility of *Escherichia coli* isolates to meropenem and cefepime, depending on the minimal inhibitory concentration (MPC)

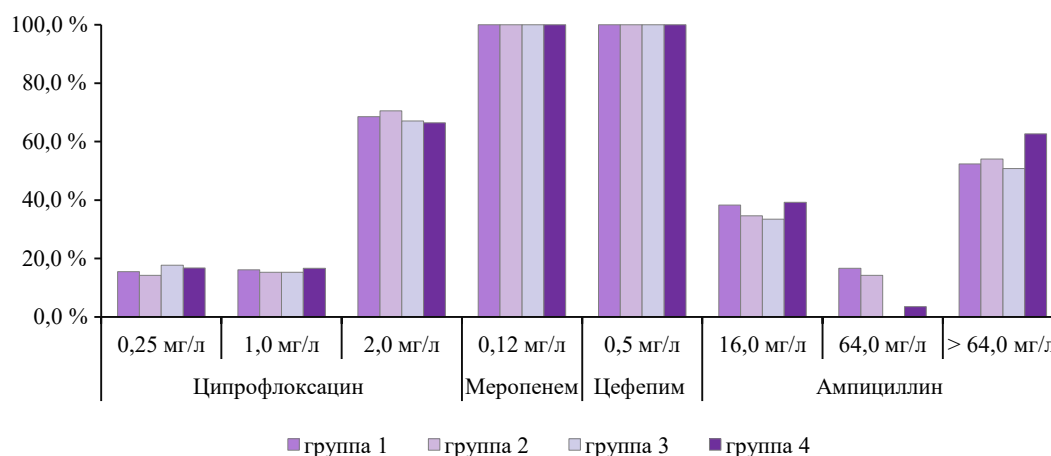


Рисунок 5. Распределение чувствительности изолятов *Klebsiella pneumoniae* к меропенему, цефепиму, ампициллину и ципрофлоксацину в зависимости от минимальной подавляющей концентрации

Figure 5. Susceptibility of *Klebsiella pneumoniae* isolates to meropenem, cefepime, ampicillin, and ciprofloxacin, depending on the minimal inhibitory concentration

клебсиелл к полусинтетическим пенициллинам и подтверждается данными EUCAST о природной устойчивости этих бактерий к данному антибиотику (рис. 5). В группе № 3 были выявлены изоляты, чувствительные к минимальной подавляющей концентрации 16 мг/л (33,5 %) и более 64 мг/л (50,8 %), для которых рабочая минимальная подавляющая концентрация найдена не была. В группах № 1, 2 и 4 обнаружили изоляты, чувствительные к минимальной подавляющей концентрации ампициллина в 64 мг/л – 16,7, 14,3 и 3,5 % соответственно. Доля клебсиелл, для которых минимальная подавляющая

концентрация не была найдена (более 64 мг/л), составляла в группе № 1 – 52,4 %, в группе № 2 – 54,1 %, в контрольной группе № 4 – 62,7 %.

К меропенему и цефепиму все выделенные изоляты были чувствительны с минимальной подавляющей концентрацией 0,12 и 0,5 мг/л соответственно. Резистентные к ампициллину и ципрофлоксацину изоляты обнаружили во всех опытных и контрольной группах с одинаковой частотой. Полученные результаты могут свидетельствовать о контаминации исследуемых микробиоценозов агентами резистентности к антибиотикам класса фторхинолонов.

Провели анализ изолятов энтеропатогенных бактерий, выделенных из образцов подстилки всех 4 групп на наличие генетических детерминант резистентности. Анализировали изоляты *K. pneumoniae* и *E. coli* методом real-time PCR. В пробах из группы № 2, в которых цыплята в качестве компонента рациона получали антибиотик авиламицин А и фитобиотик на основе масел *Brassica juncea*, *Linum usitatissimum* и *Nigella sativa* L., обнаружили наибольшее количество изолятов, которые имели гены резистентности. В этой группе были выделены изоляты *E. coli*, имевшие ген blaDHA, ассоциированный с бета-лактамазами расширенного спектра, а также *K. pneumoniae*, имевшие гены blaKPS и blaOXA48-like, кодирующие резистентность к защищенным пенициллинам, цефалоспорином I, III и IV поколения и карбапенемам. В группе № 1 выявили изоляты *K. pneumoniae* с blaDHA-геном резистентности. В изолятах *K. pneumoniae* из подстилки групп № 3 и 4 гены резистентности не обнаружили.

Выводы

Проведенные исследования микробиома цыплят-бройлеров показали, что преобладающими условно-патогенными микроорганизмами были грамотрицательные бактерии порядка *Enterobacterales*. На долю *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* и *Proteus* приходилось более трети от всех выделенных штаммов.

При исследовании фенотипической чувствительности выделенных культур *E. coli* не обнаружили резистентности к клинически значимым антибиотикам класса β -лактамов: меропенему (представителю группы карбапенемов) и цефепиму (представителю группы цефалоспоринов IV поколения). Таким образом, приобретения в ходе эксперимента генов, кодирующих карбапенемазы и ESBL, не было (либо эти гены молчащие и не были проявлены фенотипически). Все штаммы *K. pneumoniae* показали резистентность к ампициллину, что подтверждается данными EUCAST по природной устойчивости к этому антибиотику, связанной с присутствием в хромосомах *K. pneumoniae* пенициллиназы SHV-1.

У изолятов *K. pneumoniae*, обнаруженных во всех опытных и контрольной группах, был выявлен высокий уровень устойчивости к ципрофлоксацину (фторхинолоны), резистентность к которому определяет резистентность ко всему классу хинолонов из-за наличия перекрестной устойчивости. У грамотрицательных палочек резистентность к фторхинолонам носит плазмидно-опосредованный характер и связана с приобретением мобильных генов qnrA и qnrB, которые были впервые описаны у *K. pneumoniae*. При анализе генотипа изолятов *K. pneumoniae* были обнаружены гены blaDHA, кодирующие бета-лактамазы расширенного спектра. Данные факты свидетельствуют о наличии в микробиоме высокого потенциала резистентности к бета-лактамам АМП.

Отсутствие в смывах с клоаки цыплят резистентных к фторхинолонам клебсиелл и их наличие в подстилке опытных и контрольной групп указывают на значимость микробиоты подстилки в сохранении и циркуляции агентов резистентности при содержании цыплят-бройлеров.

Использование добавок антибиотика и фитобиотика в рационе цыплят не оказало существенного влияния на динамику родовидового состава *Enterobacteriaceae* в отличие от грамположительных кокков. Были выявлены различия между группами в количестве резистентных и чувствительных изолятов *K. pneumoniae*. В группе № 3, где цыплята получали только фитобиотическую добавку, был установлен наиболее высокий уровень чувствительности изолятов *K. pneumoniae* к ципрофлоксацину. Наименьшее количество чувствительных изолятов выявили в группе № 2, получавшей антибиотик авиламицин А. При анализе генетических детерминант устойчивости наибольшее их количество обнаружили в группе № 2 – изоляты *E. coli*, несущие ген blaDHA, и изоляты *K. pneumoniae*, имевшие гены blaKPS и blaOXA48-like. В изолятах *K. pneumoniae* из подстилки групп № 3 и 4 гены резистентности обнаружены не были.

Исследование *in vitro* возможности формирования резистентности у стандартных штаммов *E. coli* при поступлении подпороговых количеств антибиотиков на протяжении срока, соответствующего технологическому периоду выращивания бройлеров (37 суток), показало, что при данных условиях резистентность к использованным антибиотикам не развивалась. На таких коротких временных отрезках ключевое значение для распространения антимикробной резистентности имеют контакты между микроорганизмами, необходимые для передачи мобильных агентов резистентности. При отсутствии доступа к резистентной бактерии, не имеющие в геноме активных детерминант резистентности, сохраняют чувствительность к антибиотикам даже при постоянном контакте с ними.

Критерии авторства

Авторы в равной степени участвовали в написании рукописи и несут ответственность за плагиат.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Contribution

The authors were equally involved in writing the manuscript and are responsible of plagiarism

Conflict of interest

The authors declare that there is no conflict of interest regarding the publication of this article.

References/Список литературы

1. Chaplygina OS, Prosekov AY, Vesnina AD. Determining the residual amount of amphenicol antibiotics in milk and dairy products. Food Processing: Techniques and Technology. 2022;52(1):79–88. (In Russ.). <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2022-1-79-88>
2. Li X, Aly SS, Su Z, Pereira RV, Williams DR, Rossitto P, et al. Phenotypic antimicrobial resistance profiles of *E. coli* and *Enterococcus* from dairy cattle in different management units on a central California dairy. Clinical Microbiology. 2018;7. <https://doi.org/10.4172/2327-5073.1000311>
3. Spera AM, Esposito S, Pagliano P. Emerging antibiotic resistance: Carbapenemase-producing enterobacteria. Bad new bugs, still no new drugs. Infezioni in Medicina. 2019;27(4):357–364.
4. Gregova G, Kmet V. Antibiotic resistance and virulence of *Escherichia coli* strains isolated from animal rendering plant. Scientific Repots. 2020;10. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-72851-5>
5. Lalak A, Wasyl D, Zając M, Skarżyńska M, Hoszowski A, Samcik I, et al. Mechanisms of cephalosporin resistance in indicator *Escherichia coli* isolated from food animals. Veterinary Microbiology. 2016;194:69–73. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2016.01.023>
6. Ranjbar R, Moradi H, Harzandi N, Kheiri R, Khamesipour F. Integron-associated antibiotic resistance patterns in *Escherichia coli* strains isolated from human and animal sources in two provinces of Iran. Modern Technologies in Medicine. 2019;11(4):64–72. <https://doi.org/10.17691/stm2019.11.4.07>
7. Buberger ML, Mo SS, Sekse C, Sunde M, Wasteson Y, Witsø IL. Population structure and uropathogenic potential of extended-spectrum cephalosporin-resistant *Escherichia coli* from retail chicken meat. BMC Microbiology. 2021;21. <https://doi.org/10.1186/s12866-021-02160-y>
8. Chaplygina OS, Kozlova OV, Zharko MY, Petrov AN. Assessing the biological safety of dairy products with residual antibiotics. Food Processing: Techniques and Technology. 2023;53(1):192–201. (In Russ.). <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2023-1-2427>
9. Bezborodova NA, Sokolova OV, Shkuratova IA, Ryapsova MV, Lysova YaYu, Isakova MN, et al. Sensitivity and resistance of the microbiota of reproductive organs and mammary gland of cows to anti-microbial agents in cases of inflammation. International Journal of Biology and Biomedical Engineering. 2020;14:49–54. <https://doi.org/10.46300/91011.2020.14.8>
10. Reshadi P, Heydari F, Ghanbarpour R, Bagheri M, Jajarmi M, Amiri M, et al. Molecular characterization and antimicrobial resistance of potentially human-pathogenic *Escherichia coli* strains isolated from riding horses. BMC Veterinary Research. 2021;17. <https://doi.org/10.1186/s12917-021-02832-x>
11. Poirel L, Madec J-Y, Lupo A, Schink A-K, Kieffer N, Nordmann P, et al. Antimicrobial resistance in *Escherichia coli*. Microbiology Spectrum. 2018;6(4). <https://doi.org/10.1128/microbiolspec.ARBA-0026-2017>
12. Al'-Hammash NM, Ignatenko AV. Analysis of antibiotics resistance of *E. coli* microorganisms. Proceedings of BSTU. № 4. Chemistry, Organic Substances Technology and Biotechnology. 2012;151(4):173–175. (In Russ.). [Аль-Хаммаш Н. М., Игнатенко А. В. Анализ антибиотикорезистентности микроорганизмов *E. coli* // Труды БГТУ. № 4. Химия, технология органических веществ и биотехнология. 2012. Т. 151. № 4. С. 173–175.]. <https://www.elibrary.ru/SNMKSX>
13. Velasova M, Smith RP, Lemma F, Horton RA, Duggett NA, Evans J, et al. Detection of extended-spectrum β -lactam, AmpC and carbapenem resistance in Enterobacteriaceae in beef cattle in Great Britain in 2015. Journal of Applied and Microbiology. 2019;126(4):1081–1095. <https://doi.org/10.1111/jam.14211>
14. Paitan Y. Current trends in antimicrobial resistance of *Escherichia coli*. In: Frankel G, Ron EZ, editors. *Escherichia coli*, a versatile pathogen. Cham: Springer; 2018. pp. 181–211. https://doi.org/10.1007/82_2018_110
15. Kaushik P, Anjay, Kumari S, Dayal S, Kumar S. Antimicrobial resistance and molecular characterisation of *E. coli* from poultry in Eastern India. Veterinaria Italiana. 2018;54(3):197–204.
16. Madec J-Y, Haenni M, Nordmann P, Poirel L. Extended-spectrum β -lactamase/AmpC- and carbapenemase-producing Enterobacteriaceae in animals: A threat for humans? Clinical Microbiology and Infection. 2017;23(11):826–833. <https://doi.org/10.1016/j.cmi.2017.01.013>
17. Köck R, Daniels-Haardt I, Becker K, Mellmann A, Friedrich AW, Mevius D, et al. Carbapenem-resistant Enterobacteriaceae in wildlife, food-producing, and companion animals: A systematic review. Clinical Microbiology and Infection. 2018;24(12):1241–1250. <https://doi.org/10.1016/j.cmi.2018.04.004>
18. Rozwandowicz M, Brouwer MSM, Fischer J, Wagenaar JA, Gonzalez-Zorn B, Guerra B, et al. Plasmids carrying antimicrobial resistance genes in Enterobacteriaceae. Journal of Antimicrobial Chemotherapy. 2018;73(5):1121–1137. <https://doi.org/10.1093/jac/dkx488>
19. Özbudak S. Phytobiotics and their roles in broiler nutrition. Journal of Poultry Research. 2019;16(1):23–29. <https://doi.org/10.34233/jpr.465575>
20. Sethiya NK. Review on natural growth promoters available for improving gut health of poultry: An alternative to antibiotic growth promoters. Asian Journal of Poultry Science. 2016;10(1):1–29. <https://doi.org/10.3923/ajpsaj.2016.1.29>

<https://doi.org/10.21603/2074-9414-2023-4-2473>
<https://elibrary.ru/ZDXZJE>

Оригинальная статья
<https://fptt.ru>

Основные факторы успеха молочного производства в Чувашской Республике



Н. М. Сурай^{1,*}, А. Л. Таточенко², Е. А. Красильникова¹,
Н. А. Теплая³, А. П. Михалев³, Г. В. Жданова³

¹ Российский экономический университет имени Г. В. Плеханова^{ROR}, Москва, Россия

² Институт государственного администрирования^{ROR}, Москва, Россия

³ Московский государственный университет технологий и управления имени К. Г. Разумовского (Первый казачий университет)^{ROR}, Москва, Россия

Поступила в редакцию: 24.01.2023
Принята после рецензирования: 13.02.2023
Принята к публикации: 07.03.2023

*Н. М. Сурай: natalya.mixajlovna.1979@mail.ru,
<https://orcid.org/0000-0001-6219-4363>

А. Л. Таточенко: <https://orcid.org/0000-0001-8745-3181>

Е. А. Красильникова: <https://orcid.org/0000-0002-5707-9747>

Н. А. Теплая: <https://orcid.org/0000-0002-4090-7577>

А. П. Михалев: <https://orcid.org/0000-0002-9419-1906>

Г. В. Жданова: <https://orcid.org/0000-0001-8852-1385>

© Н. М. Сурай, А. Л. Таточенко, Е. А. Красильникова,
Н. А. Теплая, А. П. Михалев, Г. В. Жданова, 2023



Аннотация.

Душевое потребление молока в России отстает от рекомендуемой Минздравом рациональной нормы (325 кг) более чем на четверть. В Чувашской Республике производится 373 кг молока на душу населения, что на 71 % превышает общероссийский показатель. Цель исследования заключалась в анализе факторов успеха молочной отрасли данного региона.

Объектами исследования являлись демографическая ситуация в Чувашской Республике, характеристика молочного стада и показатели деятельности отраслевых предприятий. Использовали методы систематизации и обобщения, группировки, статистической обработки данных и анализа показателей динамики временных рядов.

Чувашская Республика характеризуется высоким процентом сельского населения и большим количеством молочных подсобных хозяйств, в которых содержится 60 % молочного стада. Ведущие региональные предприятия – производители молока – развились в агропромышленные холдинги, которые имеют племенные стада, обеспечиваемые экологически чистыми кормами и выращиваемые на собственных землях. Поэтому у трети предприятий показатели молочной продуктивности сравнимы с лучшими результатами производителей Евросоюза, а большая часть производимого в Чувашии молока близка по качеству к органической. Правительство региона реализует комплексную систему мер поддержки молочной отрасли: субсидии выделяются на содержание дойных коров, приобретение племенного скота, повышение объемов переработки в сезоны «большого молока» и пр.

Успех молочной отрасли Чувашии обеспечивается благодаря высокому проценту сельского населения, значительному количеству дойных коров, содержащихся в личных подсобных хозяйствах, преобладанию племенного поголовья в молочном стаде, качественной кормовой базе, техническому оснащению предприятий по производству и переработке молока и комплексной системе мер государственной поддержки, оказываемой предприятиям, фермерским и личным подсобным хозяйствам региона.

Ключевые слова. Молоко, качество, агропромышленный комплекс, производство, потребление, поголовье, племенной скот

Для цитирования: Основные факторы успеха молочного производства в Чувашской Республике / Н. М. Сурай [и др.] // Техника и технология пищевых производств. 2023. Т. 53. № 4. С. 718–730. <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2023-4-2473>

Dairy Production in the Chuvash Republic: Success Factor Analysis



Natalya M. Suray^{1,*}, Alexander L. Tatochenko²,
Elena A. Krasil'nikova¹, Naila A. Teplaia³,
Alexey P. Mikhalev³, Galina V. Zhdanova³

¹ Plekhanov Russian University of Economics^{ROR}, Moscow, Russia

² Institute of State Administration^{ROR}, Moscow, Russia

³ K.G. Razumovsky Moscow State University of Technologies and Management
(the First Cossack University)^{ROR}, Moscow, Russia

Received: 17.05.2023
Revised: 20.06.2023
Accepted: 04.07.2023

*Natalya M. Suray: natalya.mixajlovna.1979@mail.ru,
<https://orcid.org/0000-0001-6219-4363>
Alexander L. Tatochenko: <https://orcid.org/0000-0001-8745-3181>
Elena A. Krasil'nikova: <https://orcid.org/0000-0002-5707-9747>
Naila A. Teplaia: <https://orcid.org/0000-0002-4090-7577>
Alexey P. Mikhalev: <https://orcid.org/0000-0002-9419-1906>
Galina V. Zhdanova: <https://orcid.org/0000-0001-8852-1385>

© N.M. Suray, A.L. Tatochenko, E.A. Krasil'nikova, N.A. Teplaia,
A.P. Mikhalev, G.V. Zhdanova, 2023



Abstract.

The article discusses the dairy industry in the Chuvash Republic, Russia. The Russian Federation is experiencing a shortage of milk. Currently, the per capita milk consumption in the country is by more than a quarter behind the rational intake recommended by the Ministry of Health, which is 325 kg. However, the Chuvash Republic boasts 373 kg of per capita milk production, which is by 71% higher than the average data for the rest of the country, and the high quality of Chuvash milk is unanimously confirmed by leading domestic experts. The authors analyzed the success factors of milk production in the Chuvash Republic to be extrapolated on the entire domestic industry.

The research relied on such demographic data as the ratio of urban vs. rural population; dairy herd data, e.g., livestock population, farm types, dairy productivity, etc.; dairy production and processing business data. The methods included systematization, generalization, grouping, statistical data processing, and analysis of temporal dynamics indicators.

The Chuvash Republic has a large percentage of rural population and a lot of subsidiary dairy farms: 22 000 farms own more than 60% of dairy cows in the region and provide 55% of milk processing volumes. Subsidies allocated by the local government allow farm owners to ensure the high dairy productivity of cows. Most of the milk in the Chuvash Republic can be classified as near-organic. Leading regional milk producers have their own agricultural lands to provide environmentally friendly feed, as well as specialized premises for herd keeping and milking, retail outlets to sell their products, etc. A third of enterprises maintain the milk productivity at 7800–9200 kg, which is as high as in Denmark, the Netherlands, Great Britain, and Germany. Most Chuvash dairy farmers owe their high results to the state support funds allocated for the purchase of breeding cattle. The twelve largest milk producers in the region provide 100% of the output of drinking milk, so private farms mainly focus on meeting the needs of dairy processing enterprises. The latter also receive seasonal subsidies.

The Chuvash milk miracle can be explained by the following factors: big rural population; private subsidiary farms; high-quality breeding dairy livestock; high-quality feed; good milk production and processing equipment. However, the comprehensive system of state support measures remains the most important success factor.

Keywords. Milk, quality, agro-industrial complex, production, consumption, livestock, breeding stock

For citation: Suray NM, Tatochenko AL, Krasil'nikova EA, Teplaia NA, Mikhalev AP, Zhdanova GV. Dairy Production in the Chuvash Republic: Success Factor Analysis. Food Processing: Techniques and Technology. 2023;53(4):718–730. (In Russ.). <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2023-4-2473>

Введение

Молоко и молочные продукты являются важной составляющей рациона здорового питания населения России. Министерством здравоохранения Российской

Федерации в приказе от 19.08.2016 № 614 установлена рациональная годовая норма потребления молочных продуктов – 325 кг на человека (в пересчете на молоко). Данные продукты являются источником

ценного легкоусвояемого животного белка. Исследования молочных продуктов подтверждают их лечебные свойства, в т. ч. в отношении «болезни 21-го века» – сахарного диабета [1]. Дополнительную ценность молочному сырью придает возможность разработки безотходных пищевых технологий на его основе путем комбинации молочной сыворотки с растительными компонентами [2].

Однако отечественный агропромышленный комплекс не производил молоко в объемах, обеспечивающих рациональную норму потребления. Согласно данным Росстата валовое производство в 2021 г. составило 32,1 млн т, что при населении страны в 147,2 млн человек соответствует душевому показателю 218 кг. Однако не все произведенное молоко потребляется населением, часть его расходуется на технологические нужды в пищевой промышленности (колбасное, кондитерское производство и т. д.) и АПК (выпашивание телят и пр.).

Дефицит частично восполняется за счет зарубежных поставок: в 2021 г. РФ импортировала 6,8 млн т молочной продукции на сумму \$2,8 млрд. В результате этого душевое потребление по России достигло значения 240 кг, что составляет более 73 % от рациональной нормы потребления. Проводимая с 2015 г. политика импортозамещения позволила сократить более чем на 35 % импорт молочной продукции. В 2014 г. объем молочной продукции в натуральном выражении составил 9,2 млн т, а в стоимостном – \$3,8 млрд. Был пересмотрен список стран-экспортеров: сегодня 75 % продукции импортируется из Республики Беларусь.

Однако проблема увеличения отечественного производства молока и объемов его переработки не теряет актуальности [2]. Согласно оценкам, основанным на прогнозе изменения численности населения РФ, в период 2025–2035 гг. для достижения рациональной нормы потребления отечественному АПК необходимо ежегодно производить 46,2–46,8 млн т молока, что составляет 144 % от показателя 2021 г. [3]. Выполнение данного условия зависит от поголовья дойных коров. Прочие породы молочного скота (козы, овцы и др.) мы не рассматривали, поскольку свыше 95 % потребляемого в РФ молока – коровье. Тенденцией отечественного молочного скотоводства стало сокращение поголовья крупного рогатого скота, компенсируемое ростом молочной продуктивности за счет селекционной работы, оптимизации кормового рациона, улучшения условий содержания коров и пр. [4]. Несмотря на предпринимаемые меры, валовое производство молока находится в стагнации: в 2011 г. значение показателя составило 31,6 млн т, в 2014 г. – 30,8 млн т, в 2018 г. – 30,6 млн т. и т. д. Прирост в 2011–2021 гг. составил всего 0,5 млн т, что соответствует среднегодовому темпу роста 100,5 %. Однако для выхода на уровень рациональной нормы потребления к 2030 г. среднегодовой темп роста

должен составлять не менее 104–105 %. Лучше ситуация с товарным (предназначенным к реализации) молоком: в 2014 г. его было произведено 19,5 млн т, а в 2021 г. 23,8 млн т, значение среднегодового темпа роста составило 102,9 %, а показатель товарности вырос с 63 до 74 %. Объемы товарного молока увеличились в сельскохозяйственных организациях с 13,5 до 17,4 млн т, в крестьянских фермерских хозяйствах – с 1,3 до 2,1 млн т, а в личных подсобных хозяйствах населения отмечался спад с 4,7 до 4,3 млн т. Несмотря на оказываемые меры господдержки, крестьянские фермерские хозяйства пока не играют большой роли в решении «молочной проблемы» [5].

Приведенная выше информация описывает усредненную ситуацию по России, но в некоторых субъектах федерации показатели обеспечения молочной продукцией находятся на высоком уровне. В Республике Чувашия с населением 1186,9 тыс. человек в 2021 г. было произведено 442,6 тыс. т молока, а душевое производство составило 373 кг. Это более чем на 70 % выше общероссийского показателя. Население республики потребляло молочную продукцию в количестве 268 кг на человека (82,5 % от рациональной нормы потребления или 112 % от среднего потребления по РФ), значительная ее часть поставлялась в другие регионы.

Чувашия не входит в число ведущих «молочных» регионов. Их список возглавляет Татарстан с долей 6 % в общероссийском производстве, затем идут Башкортостан и Краснодарский край с долями 5,2 и 4,8 %, далее Алтайский край, Ростовская и Воронежская области – 3,8, 3,4 и 3,2 % соответственно, еще 8 субъектов федерации имеют значение показателя выше 2 %. Отсутствие Чувашии в списке регионов-лидеров может быть связано с масштабом (регион является относительно небольшим). Удмуртская Республика с населением 1452,9 тыс. человек имеет долю 2,7 % в общероссийском производстве молока (859,1 тыс. т или 591 кг на душу населения). Занимая 31-е место по объемам производства молока, Чувашия добилась признания высочайшего качества своей продукции.

Проблема обеспечения качества молочных продуктов актуальна для отечественной пищевой промышленности [6]. Большое значение для ее решения имеет грамотная организация процедуры мониторинга [7]. Авторитетным игроком на этом поле деятельности является АНО «Российская система качества», учрежденная Распоряжением Правительства РФ № 780-Р от 30.04.2015. В 2022 г. организация провела исследование более 100 торговых марок пастеризованного молока, что составляет около 70 % соответствующего сегмента внутреннего рынка. Результаты экспертизы показали, что продукция 21 торговой марки полностью соответствует не только всем требованиям российского законодательства, но и высоким критериям Роскачества. Из отмеченных торго-

вых марок одна принадлежит Республике Беларусь (ООО «Несвижский завод детского питания»), остальные – отечественные, среди которых ООО «Аккондмолоко» (Чувашская Республика) [8]. Из 6 регионов, которые являются ведущими производителями молока, в списке лидеров качества представлена только Воронежская область (ООО «Эконива молоко Воронеж»).

Представляет интерес анализ факторов, позволяющих Чувашской Республике производить молоко высокого качества в объемах, которые обеспечивают внутренние потребности региона. Необходимо рассмотреть проблему комплексно: оценить состояние молочного животноводства и производственных мощностей по переработке молока, проанализировать экономическую эффективность хозяйственно-производственной деятельности отраслевых предприятий и пр.

Объекты и методы исследования

Объектами исследования являлись молочное стадо КРС Республики Чувашия (численность и структура поголовья, его распределение по типам хозяйств, показатели молочной продуктивности); предприятия республики по производству и переработке молока (основные показатели хозяйственно-экономической деятельности, меры господдержки); демографические показатели региона (соотношение городского и сельского населения, перспективы обеспечения потребностей АПК в работниках).

Предметом исследования являлись региональные особенности функционирования АПК, которые позволяют добиваться результатов в сфере молочного производства, превышающих как количественные, так и качественные средние российские показатели. Показатели Чувашии целесообразно рассматривать не изолированно, а в сравнении со средними по РФ и Приволжскому федеральному округу, в состав которого входит республика.

В работе использовали несколько источников информации:

- источниками сведений об основных показателях деятельности регионального АПК, объемах производства и переработки молока, численности и структуре поголовья молочного стада, демографической ситуации в регионе являлись официальные сайты Федеральной службы государственной статистики и территориального органа Росстата по Чувашской Республике (<https://rosstat.gov.ru>, <https://chuvash.gks.ru>);
- источником сведений о показателях качества молочной продукции, реализуемой на внутреннем рынке РФ, выступил официальный сайт АНО «Российская система качества» (<https://roskachestvo.gov.ru>);
- источниками актуальной информации о текущем состоянии и тенденциях развития молочного рынка являлись информационно-аналитические интернет-порталы молочной отрасли: «DairyNews» – новости

молочного рынка (<https://dairynews.today/news>), «MilkNews» – новости и аналитика молочного рынка (<https://milknews.ru>), «DataMilknews» – справочник молочной отрасли (<https://data.milknews.ru>);

– источниками информации об основных показателях хозяйственно-экономической деятельности региональных предприятий по производству и переработке молока были интернет-порталы бизнес-сообщества «ЗаЧестныйБизнес» – всероссийская система проверки контрагентов (<https://zachestnyibiznes.ru>), «Audit-it.ru» – финансовый анализ по данным отчетности (<https://www.audit-it.ru>) и «TESTFIRM» (<https://www.testfirm.ru>);

– источником мнений экспертов по рассматриваемой проблеме являлись научные статьи по теме исследования, опубликованные в 2018–2022 гг. в ведущих отраслевых журналах: «Техника и технология пищевых производств», «Молочная промышленность», «Молочное и мясное скотоводство», «Foods and Raw Materials» и др. [1, 2, 6–19].

При выполнении исследования использовали следующие методы: систематизацию и обобщение, группировку массивов данных, статистический анализ с расчетом основных характеристик распределения изучаемых величин, анализ временных рядов с расчетом основных показателей динамики.

Результаты и их обсуждение

На начальном этапе мы провели сравнительный анализ основных показателей производства и переработки молока в Чувашии и РФ в 2021 г. с целью формирования базовых представлений об объекте исследования (табл. 1).

Из данных таблицы 1 можно сделать вывод о том, что в Чувашии, в которой проживает всего 0,8 % россиян, сосредоточено 1,1 % молочного стада РФ, т. е. удельное поголовье коров в расчете на 1 жителя почти на 38 % выше, чем в среднем по стране (строки 1–3). Как следствие, при практически одинаковой молочной продуктивности (строка 6) регион производит молока на душу населения на 71 % больше, чем в среднем по РФ (строка 5), а душевое потребление почти на 12 % опережает общероссийское (строка 7). Питьевое молоко в республике и в РФ производится в примерно равных относительных объемах (строка 9), но его доля в валовом производстве Чувашии примерно вдвое меньше (строка 10). Суммарная доля переработки молока в масло и сыр для Чувашии вдвое ниже общероссийского показателя (15,7 и 35,7 % соответственно, строка 17). Показатели переработки в сыр несопоставимы по порядку величин (строка 12), а в сливочное масло различаются незначительно (строка 16). Причин разницы в показателях может быть несколько:

1) многочисленность сельского населения, самостоятельно перерабатывающего продукцию личных подсобных хозяйств для удовлетворения собственных нужд;

Таблица 1. Показатели производства и переработки молока в Чувашской Республике и РФ в 2021 г. [15]

Table 1. Milk production and processing in the Chuvash Republic and the Russian Federation, 2021 [15]

№ п/п	Показатель	РФ	Чувашия	Чувашия/РФ, %
1	Численность населения, тыс. человек	147 182,1	1186,9	0,8
2	Поголовье коров, тыс. голов	7778,2	86,5	1,1
3	Отношение показателей строк 2 и 1, отн. ед.	0,053	0,073	137,9
4	Производство молока, тыс. т	32 116,3	442,6	1,4
5	Душевое производство молока, кг	218,0	373,0	171,1
6	Продуктивность коров, кг	4944,2	4991,3	100,1
7	Душевое потребление молока, кг	240,0	268,0	111,7
8	Доля от рациональной нормы потребления, %	73,8	82,5	111,8
9	Производство питьевого молока, тыс. т	5646,5	42,7	0,8
10	Доля в валовом производстве (отношение показателей строк 9 и 4), %	17,6	9,7	54,9
11	Производство сыра, т	784 163,7	846,9	0,1
12	в пересчете на молоко, тыс. т	6038,0	7,4	0,1
13	Доля в валовом производстве (отношение показателей строк 12 и 4), %	18,8	1,7	9,0
14	Производство сливочного масла, т	269 108,2	3074,5	1,1
15	в пересчете на молоко, тыс. т	5436,0	62,1	1,1
16	Доля в валовом производстве (отношение показателей строк 15 и 4), %	16,9	14,0	82,8
17	Сумма долей переработки (сумма строк 13 и 16), %	35,7	15,7	44,0

2) недостаточная обеспеченность региона производственными мощностями по переработке молока;

3) обусловленная конъюнктурой рынка меньшая потребность в переработанной продукции по сравнению с исходной.

Две из трех названных причин реальны для Чувашии, доля сельского населения в которой составляет 34 %, что почти в 1,4 раза выше общероссийского показателя – 25 %. Кроме того, высокое качество вырабатываемого в регионе питьевого молока предопределяет большой потребительский спрос не только в «домашних условиях», но и в других субъектах федерации. Оценивать обеспеченность региона мощностями переработки на основании предварительного анализа некорректно, поэтому данный вопрос будет подробно рассмотрен на следующих этапах исследования.

Доля сельского населения Приволжского федерального округа (ПФО) составляет 28 %, что выше среднего показателя по РФ, но ниже, чем в Чувашии. ПФО – крупное образование, в котором проживает около 20 % населения РФ – 28,9 млн человек. Демографические показатели входящих в его состав 14 субъектов федерации различны [16]. В одних регионах доля сельского населения близка к Чувашии (Мордовия – 36 %, Башкортостан – 37 %, Оренбургская область – 40 %), а в других ниже общероссийской (Татарстан и Ульяновская область – 23 %, Самарская и Нижегородская области – 20 %). ПФО лидирует в производстве молока: в 2021 г.

оно составило 10,0 млн т или 31 % от общероссийского валового производства (темп роста к 2020 г. составил 102,6 %). На 2-м и 3-м местах находятся Центральный и Сибирский федеральные округа с показателями 6,8 и 4,4 млн т, но темпы роста в 2020/2021 гг. у них ниже – 101,8 и 97,8 % соответственно. Душевое производство по ПФО составляет 347 кг, т. е. Чувашия опережает средний по округу показатель на 7 %.

Представляет интерес проверка возможной связи между увеличенной долей сельского населения и повышенным душевым производством молока в регионе. Сопутствующим фактором является численность поголовья коров в личных подсобных хозяйствах населения.

Характеристика молочного стада. Основные сведения о поголовье крупного рогатого скота в России, ПФО и Чувашии в 2005–2020 гг. представлены в таблице 2. Росстат в разделе региональной статистики приводит сведения о численности поголовья крупного рогатого скота во всех типах хозяйств в абсолютных единицах (тыс. голов), а дифференцировано по типам хозяйств – в относительных (процентных долях). При составлении таблицы 2 данные по поголовью крупного рогатого скота по типам хозяйств получены путем расчета по соответствующим процентным долям.

Данные таблицы 2 позволяют сделать следующие предварительные выводы:

1. Отмеченная тенденция к снижению общего поголовья крупного рогатого скота проявляется оди-

Таблица 2. Численность поголовья крупного рогатого скота в 2005–2020 гг., тыс. голов [17]

Table 2. Cattle population in 2005–2020, thousand heads [17]

№ п/п	Регион	2005 г.	2010 г.	2015 г.	2020 г.	2020/2005 гг., отн. ед.	СГТР*, %
1	Хозяйства всех типов						
1.1	РФ	21 625,0	19 793,9	18 620,9	18 027,2	0,83	98,8
1.2	ПФО	6946,5	6131,1	5293,0	4902,2	0,71	97,7
1.3	Чувашия	231,8	227,0	193,2	196,9	0,85	98,9
2	Сельскохозяйственные организации						
2.1	РФ	11 072,0	9263,5	8453,9	8130,3	0,73	98,0
2.2	ПФО	3799,7	3249,5	2762,9	2446,2	0,64	97,1
2.3	Чувашия	99,0	71,7	63,6	66,2	0,67	97,4
3	Личные подсобные хозяйства населения						
3.1	РФ	9623,1	9065,6	7932,5	7084,7	0,74	98,0
3.2	ПФО	2896,7	2519,9	2011,3	1774,6	0,61	96,8
3.3	Чувашия	130,7	148,2	118,0	109,5	0,84	98,8
4	Крестьянские фермерские хозяйства						
4.1	РФ	929,9	1464,7	2234,5	2812,2	3,02	107,7
4.2	ПФО	250,1	361,7	518,7	681,4	2,72	106,9
4.3	Чувашия	2,1	7,0	11,6	21,3	10,19	116,7

*СГТР – среднегодовой темп роста.

*СГТР – stands for average annual growth rate.

наково в РФ, ПФО и Чуваши: среднегодовой темп роста имеет очень близкие значения (строки 1.1–1.3);

2. Ситуация с динамикой поголовья крупного рогатого скота в сельскохозяйственных организациях и личных подсобных хозяйствах схожа с общей: среднегодовой темп роста различается незначительно (строки 2.1–2.3 и 3.1–3.3). В последние 15 лет поголовье уменьшается на 2,1 % ежегодно. Однако снижение поголовья в личных подсобных хозяйствах Чувашии было менее выражено: за 15 лет оно уменьшилось всего на 16 % (строка 3.3), в то время как по РФ и ПФО – на 26 и 39 % соответственно (строки 3.1 и 3.2). Причиной этого являются меры поддержки, оказываемой на региональном уровне владельцам личных подсобных хозяйств;

3. Поголовье крупного рогатого скота в крестьянских фермерских хозяйствах растет как в РФ, так и в ПФО и Республике Чувашия, но в республике показатели динамики выше: средний годовой прирост (16,7 %, строка 4.3) более чем вдвое превышает общероссийский и окружной (7,7 и 6,9 % соответственно, строки 4.1 и 4.2). За 15 лет поголовье крупного рогатого скота у фермеров Чувашии выросло более чем в 10 раз. Как и в случае с личными подсобными хозяйствами, причина кроется в эффективной региональной поддержке фермерства и кооперации.

Данные таблицы 2 отражают ситуацию с поголовьем крупного рогатого скота, но т. к. предметом исследования является молочное производство, то для более точного анализа ситуации нужно использовать данные о численности поголовья коров. В

работе Т. И. Рыбаловой показано, что в последнем десятилетии процентная доля коров в общем поголовье крупного рогатого скота изменилась незначительно [13]. Статистические характеристики показателя имеют следующие значения: максимум – 44,6 % (2011 г.), минимум – 43,4 % (2016 г.), математическое ожидание – 43,9 %, среднеквадратическое отклонение – 0,4 %, коэффициент вариации – 0,9 %. Границы доверительного интервала по Стьюденту при доверительной вероятности 95 % равны $43,7 \pm 44,3$ %. Таким образом, для пересчета поголовья крупного рогатого скота в поголовье коров можно воспользоваться переводным коэффициентом 0,437, что соответствует нижней границе доверительного интервала. Расчетные значения для 2020 г. составили по РФ: $18\,027,2 \times 0,437 = 7877,9$ тыс. голов, для Чувашии: $196,9 \times 0,437 = 86,0$ тыс. голов. Значения показателей, согласно таблице 1 (строка 2), – 7778,2 и 86,5 тыс. голов соответственно, погрешность расчета – менее 1,5 %. В первом приближении допустимо оценивать тенденции изменения поголовья коров в региональных хозяйствах различного типа на основании данных, полученных для крупного рогатого скота.

Точные сведения о поголовье коров по типам хозяйств в регионах РФ содержатся в материалах Всероссийской сельскохозяйственной переписи, проводимой 1 раз в 10 лет (последняя в 2016 г.). Из материалов переписей 2006 и 2016 гг. могут быть определены среднегодовые темпы роста показателя, а на их основе рассчитаны оценки поголовья коров в 2021 г. (табл. 3). По данным оценкам можно отсле-

Таблица 3. Расчетная численность поголовья коров в различных типах хозяйств, тыс. голов [18]

Table 3. Estimated cow population in various types of farms, thousand heads [18]

№ п/п	Регион	2006 г.	2016 г.	2016/2006 гг.	СГТР*, %	2021 г., расчет
1	Хозяйства всех типов					
1.1	РФ	9569,3	7993,9	0,84	98,2	7965,2
1.2	ПФО	2880,2	2060,9	0,72	96,7	2047,1
1.3	Чувашия	130,4	88,3	0,68	96,2	87,6
2	Сельскохозяйственные организации					
2.1	РФ	4229,9	3368,5	0,80	97,7	3353,2
2.2	ПФО	1348,1	1038,6	0,77	97,4	1033,2
2.3	Чувашия	35,2	25,1	0,71	96,7	24,9
3	Личные подсобные хозяйства населения					
3.1	РФ	4945,8	3453,0	0,70	96,5	3428,3
3.2	ПФО	1444,1	794,8	0,55	94,2	785,4
3.3	Чувашия	93,7	57,9	0,62	95,3	57,3
4	Крестьянские фермерские хозяйства					
4.1	РФ	393,6	1172,4	2,98	111,5	1198,3
4.2	ПФО	88,0	227,5	2,59	110,0	231,9
4.3	Чувашия	1,5	5,3	3,53	113,5	5,4

*СГТР – среднегодовой темп роста.

*СГТР – stands for average annual growth rate.

дить основные тенденции развития ситуации в молочном стаде. Следует учитывать, что материалы переписи дают информацию об общем поголовье коров (телок, стельных, дойных), а для точных расчетов объемов производства молока необходимо оперировать данными о численности дойных коров.

Оценка общего поголовья коров в РФ (7965,2 тыс. голов, строка 1.1) отличается от данных Справочника молочной отрасли (7778,2 тыс. голов) на 2,4 %. Расхождение оценок для Чувашии (строка 1.3) составляет 1,3 % (87,6 и 86,5 тыс. голов). Материалы таблицы 3 подтверждают выводы, полученные при анализе таблицы 2: тенденцию снижения общего поголовья коров, а также поголовья в сельскохозяйственных организациях и личных подсобных хозяйствах в РФ, ПФО и Чувашии; рост поголовья в крестьянских фермерских хозяйствах в РФ, ПФО и Чувашии; особенность Чувашии – меньшие темпы снижения поголовья коров в личных подсобных хозяйствах и более высокие темпы роста в крестьянских фермерских хозяйствах. Последняя особенность проявляется не столь выражено по сравнению с данными таблицы 2. Следует учитывать, что информационная база таблицы 3 ограничена 2016 г., а таблицы 2 2020 г., за 4 года возможны изменения ситуации (например, оказание мер поддержки фермерам и пр.).

На основании данных таблиц 2 и 3 проанализировали изменения в структуре молочного стада в 2005–2021 гг. (табл. 4). Данные Всероссийской сельскохозяйственной переписи и Росстата не являются точными, поэтому целесообразно дополнительно получить осредненные оценки.

Из данных таблицы 4 можно видеть, что между данными Росстата и сельскохозяйственной переписи есть расхождения в части оценки долей сельскохозяйственных организаций (строки 1.1. и 2.1) и личных подсобных хозяйств (строки 1.2 и 2.2) в структуре общего поголовья коров, оценки доли крестьянских фермерских хозяйств (строки 1.3 и 2.3) имеют близкие значения. Оба источника свидетельствуют о том, что в молочном стаде Чувашии на протяжении последних 15 лет преобладают коровы, содержащиеся в личных подсобных хозяйствах. Это является выраженной особенностью региона, превосходящего по данному показателю как РФ, так и ПФО в 1,5 раза (строки 1.2, 2.2 и 3.2). Несмотря на высокие темпы роста (табл. 2, строка 4.3), крестьянские фермерские хозяйства Чувашии занимают меньшую нишу в общем поголовье молочного стада по сравнению с РФ и ПФО, а средний показатель по округу ниже общероссийского (строки 1.3, 2.3 и 3.3).

Возможной причиной большого поголовья коров в личных подсобных хозяйствах являются меры поддержки, разработанные Правительством Чувашии. Установлена субсидия для собственников дойных коров в размере 2400 рублей на одну голову если в хозяйстве содержится 1 дойная корова, 3400 рублей на голову – при 2-х коровах, 4400 рублей на голову – при содержании 3-х и более коров в личном хозяйстве [19]. Называются следующие отправные цифры: общее поголовье коров в республике – 87,6 тыс. голов (точное совпадение с оценкой авторов, табл. 3, строка 1.3); доля поголовья коров в личных подсобных хозяйствах – 62 %, что близко к нашей осредненной оценке (60,6 %, табл. 4, строка 3.2);

Таблица 4. Изменения в структуре молочного стада в хозяйствах различных типов в 2005–2021 гг., процентные доли [17, 18]

Table 4. Dairy herd structure in farms of various types in 2005–2021, % [17, 18]

№ п/п	Тип хозяйств	РФ		ПФО		Чувашия	
		2005–2006 гг.	2020–2021 гг.	2005–2006 гг.	2020–2021 гг.	2005–2006 гг.	2020–2021 гг.
1	Данные Всероссийской сельскохозяйственной переписи						
1.1	СХО*	44,2	42,1	46,8	50,5	27,0	28,5
1.2	ЛПХ**	51,7	43,0	50,1	38,4	71,9	65,5
1.3	КФХ***	4,1	14,9	3,1	11,2	1,2	6,1
2	Данные региональной статистики Росстата						
2.1	СХО	51,2	45,1	54,7	49,9	42,7	33,6
2.2	ЛПХ	44,5	39,3	41,7	36,2	56,4	55,6
2.3	КФХ	4,3	15,6	3,6	13,9	0,9	10,8
3	Осредненная оценка на основании данных обоих источников						
3.1	СХО	47,7	43,6	50,8	50,2	34,9	31,1
3.2	ЛПХ	48,1	41,2	45,9	37,3	64,2	60,6
3.3	КФХ	4,2	15,3	3,3	12,5	1,0	8,4

*СХО – сельскохозяйственные организации, **ЛПХ – личные подсобные хозяйства, ***КФХ – крестьянские фермерские хозяйства.

*СХО – agricultural organizations, **ЛПХ – personal subsidiary farms, ***КФХ – small peasant farms.

Таблица 5. Молочная продуктивность коров в сельскохозяйственных организациях, кг [17]

Table 5. Milk productivity, kg [17]

№ п/п	Регион	2005 г.	2010 г.	2015 г.	2020 г.	2020/2005 гг., отн. ед.	СГТР*, %
1	РФ	3280	4189	5140	6728	2,05	104,9
2	ПФО	3153	4149	5069	6629	2,10	105,1
3	Отношение показателей строк 2 и 1, отн. ед.	0,96	0,99	0,99	0,99	1,02	100,2
4	Чувашия	2881	4158	4905	6186	2,15	105,2
5	Отношение показателей строк 4 и 1, отн. ед.	0,88	0,99	0,95	0,92	1,05	100,3

*СГТР – среднегодовой темп роста.

*СГТР – stands for average annual growth rate.

число потенциальных получателей субсидий – 22 тыс. личных подсобных хозяйств, содержащих свыше 56 тыс. коров (57,3 тыс. голов, табл. 3, строка 3.3); общий объем субсидий – 185 млн. рублей в год. Из приведенных цифр следует, что в среднем в личных подсобных хозяйствах региона содержится по 2,5 головы дойных коров (по 2 коровы в одной половине хозяйств и по 3 коровы во второй). Средний размер субсидии составляет 8409 рублей на хозяйство. Однако при данном количестве коров в хозяйствах средний размер субсидии должен быть равен $(2 \times 3400 + 3 \times 4400)/2 = 10\,000$ рублей. Фактический размер выплат на 16 % меньше. Это свидетельствует о том, что не все собственники дойных коров получают субсидию, но охват 84 % хозяйств – высокий показатель. Практикуемые меры поддержки оправданы, поскольку личные подсобные хозяйства обеспечивают 55 % молока, направляемого на переработку в республике. Экономическая целесообразность господдержки малых форм хозяйствования в отрасли подтверждается данными исследова-

ний [20, 21]. Именно это является ключевым фактором, определяющим высокое качество чувашского молока, – коровы в личных подсобных хозяйствах находятся на сезонном свободном выпасе и получают естественное питание (зеленый корм без гормональных добавок и антибиотиков), а их молоко является 100 % натуральным и не содержит растительных жиров, синтетических вкусовых добавок и пр. Однако нельзя игнорировать то, что держателями личных подсобных хозяйств является сельское население, поэтому сохранение его численности в регионе является фактором устойчивости положения в молочном комплексе.

Перейдем к рассмотрению показателей продуктивности коров как важного фактора обеспечения производства молока. Соответствующие данные для сельскохозяйственных организаций приводит Росстат в разделе региональной статистики (табл. 5).

Из данных таблицы 5 можно видеть, что молочная продуктивность коров в сельскохозяйственных организациях росла в 2005–2020 гг. одинаково по РФ,

Таблица 6. Производители молока в Чувашской Республике [15]

Table 6. Milk producers in the Chuvash Republic [15]

№ п/п	Предприятие	Основные показатели предприятия	Выручка, млн рублей	Прибыль от продаж, млн рублей	Рентабельность продаж, %
1	ОАО «Вурнарский мясокомбинат»	Персонал – 290 человек. С/х земель – 20 тыс. га. Стадо – 4976 голов КРС, 2052 фуражных коров. Производство молока – 12 784 т, надой – 6230 кг	1567,938	33,356	2,1
2	ЗАО «Фирма Акконд-агро»	Персонал – 149 человек. С/х земель – 3,2 тыс. га. Стадо – 1891 корова, 973 дойных. Производство молока – 7180 т, надой – 7379 кг	240,313	49,260	20,5
3	ЗАО «Агрофирма “Ольдеевская”»	Персонал – 506 человек. С/х земель – 1,3 тыс. га. Стадо – 1413 голов КРС, 774 коровы. Производство молока – 7138 т, надой – 9222 кг	928,185	53,722	5,8
4	ОАО «Чурачикское»	Персонал – 62 человека. С/х земель – 2,2 тыс. га. Стадо – 2082 головы КРС, 700 коров. Производство молока – 5714 т, надой – 8163 кг	225,594	27,838	12,3
5	СХПК «Коминтерн»	Персонал – 173 человека. С/х земель – 870 га. Стадо – 2062 голов КРС, 705 коров. Производство молока – 4780 т, надой – 6780 кг	170,962	25,731	15,1
6	СХПК «Новый путь»	Персонал – 192 человека. С/х земель – 1,1 га. Стадо – 1583 головы КРС, 520 коров. Производство молока – 4266 т, надой – 8204 кг	173,188	38,381	22,2
7	ЗАО «Прогресс»	Персонал – 203 человека. С/х земель – 3,1 тыс. га. Стадо – 1739 головы КРС, 615 фуражных коров. Производство молока – 3618 т, надой – 5883 кг	157,964	–2,566	–1,6
8	СХПК им. Кирова	Персонал – 151 человек. С/х земель – 1,1 тыс. га. Стадо – 1556 голов КРС, 580 коров. Производство молока – 3154 т, надой – 5438 кг	102,234	17,792	17,4
9	СХПК «Колхоз им. Ленина»	Персонал – 135 человека. С/х земель – 1,1 тыс. га. Стадо – 480 фуражных коров. Производство молока – 2861 т, надой – 5960 кг	103,915	–16,934	–16,3
10	ЗАО «Смак-Агро»	Персонал – 42 человека. С/х земель – н/д. Стадо – 477 коров, 318 дойных. Производство молока – 2477 т, надой – 7789 кг	109,869	20,814	18,9
11	ООО «Агрофирма «Путь Ильича»	Персонал – 73 человека. С/х земель – н/д. тыс. га. Стадо – 500 коров. Производство молока – 2400 т, надой – 4800 кг	39,300	–12,000	–30,5
12	СХПК «Комбайн»	Персонал – 117 человек. С/х земель – 2,7 тыс. га. Стадо – 1152 головы КРС, 355 коров. Производство молока – 2244 т, надой – 6321 кг	137,928	22,214	16,1

ПФО и Чувашии: среднегодовой темп роста составил около 105 % (строки 1, 2 и 4). Значение показателя для Чувашии в 2020 г. оставалось ниже общероссийского на 8 % (строка 5), но в современных реалиях это свидетельствует о минимальном присутствии в кормовом рационе синтетических добавок, увеличивающих лактацию. Мировым трендом стало производство органической продукции, чему старается следовать отечественный АПК, в т. ч. молочная отрасль [22, 23]. В Чувашии активно развивается органическое сельское хозяйство: в 2021 г. республика впервые экспортировала органическую продукцию растениеводства (вику, гречиху и просо) в страны ЕС. Сведений о выпуске органической молочной продукции на момент написания статьи

нами обнаружить не удалось, но молоко «Гармония дня» с массовой долей жира 3,2 % (ООО «АККОНД-МОЛОКО») имеет международный сертификат соответствия системе менеджмента ХАССП, гарантирующий безопасность и высокое качество продукции.

Для оценки молочной продуктивности коров в личных подсобных и крестьянских фермерских хозяйствах воспользуемся материалами работы Т. И. Рыбаловой, содержащей временные ряды показателя по РФ по всем типам хозяйств, а также дифференцированно по каждому типу [13]. Материалы работы свидетельствуют о том, что в 2010–2021 гг. математическое ожидание молочной продуктивности коров в крестьянских фермерских и личных подсобных хозяйствах составило 68 и 67 % от анало-

гичного показателя для сельскохозяйственных организаций при выраженной тенденции к нарастанию разрыва. Предполагая, что ситуация в Чувашии не сильно отличается от общероссийской, получим соответствующие значения продуктивности в регионе для личных подсобных и крестьянских фермерских хозяйств – 4145 и 4206 кг. При таких показателях продуктивности с учетом процентных долей поголовья коров в сельскохозяйственных организациях, личных подсобных и крестьянских фермерских хозяйствах (табл. 4, строки 3.1–3.3) расчетное значение валового производства молока в республике составит 413,9 тыс. т. Однако фактическое значение показателя (442,6 тыс. т, табл. 1, строка 4) оказывается на 7 % выше расчетного. С учетом того что погрешности при определении поголовья коров в различных типах хозяйств минимальны, логично предположить, что причиной расхождения является погрешность при определении продуктивности в крестьянских фермерских и личных подсобных хозяйствах. Расчеты показывают, что при значении показателя 4600 кг для обоих типов хозяйств оценка валового производства молока составит 440,6 тыс. т (отклонение от фактического значения 0,5 %). Значения продуктивности, при которых достигается совпадение по объему валового производства молока, на 10 % превышают исходные оценки, т. е. по данному показателю фермерские и личные хозяйства Чувашии превосходят общероссийский уровень примерно на 10 %. Такой результат связан с господдержкой аграриев. Правительство Чувашской Республики разработало меры по увеличению племенного поголовья коров в крестьянских фермерских и личных подсобных хозяйствах с целью увеличения молочной продуктивности. Каждый фермер или собственник при покупке племенных коров может оформить получение субсидии в размере до 70 тыс. рублей на одну голову.

Характеристика предприятий АПК, производящих молоко. Основная информация о ведущих отраслевых предприятиях содержится в справочнике «Молочная отрасль», выпускаемом Национальным союзом производителей молока, а сведения об их производственных и экономических показателях – на порталах «MilkNews» (численность работников, площадь сельскохозяйственных земель, поголовье крупного рогатого скота, объемы производства молока) и «Audit-it.ru» (выручка, себестоимость, прибыль валовая, прибыль от продаж и др.) [15]. По материалам этих источников собрали данные о крупнейших производителях молока в Чувашии и рассчитали показатели молочной продуктивности коров и рентабельности продаж (табл. 6).

Из данных таблицы 6 можно сделать вывод о том, что из 12 крупнейших региональных производителей в 2021 г. были убыточными 3 или 25 %, что является высоким негативным показателем (строки 7, 9 и 11). В научных работах, анализирующих проблемы

молочной отрасли, отмечалась ее особенность: тенденция к снижению доходности по мере увеличения объемов производства (Постановление Кабинета Министров Чувашской Республики от 11.06.2020 № 311). Проводимая Минсельхозом политика экспортно-ориентированного развития отечественного АПК (РФ поставляет молоко в Казахстан, Узбекистан, Монголию, Китай и др., несмотря на дефицит на внутреннем рынке) приводит к увеличению себестоимости продукции. В этом отношении молоко оказывается исключением из общего правила [24, 25].

Также следует отметить разброс основных показателей среди крупнейших производителей молока: численность персонала колеблется от 42 до 506 человек (коэффициент вариации показателя (CV) равен 71 %), поголовья коров – от 355 до 2052 голов (CV = 64 %), объемов производства молока – от 2244 до 12 784 т (CV = 62 %). Соответственно, вариации подвержена выручка предприятий – от 39 млн рублей до 1,5 млрд рублей (CV = 137 %). Таким образом, рассматриваемая выборка не является однородной и не подчиняется нормальному закону распределения, поэтому расчет доверительных интервалов по данным признакам невозможен.

Меньшая вариация отмечается по надоям – от 4800 до 9222 кг, коэффициент вариации составляет 19 %. Это соответствует средней варьированности признака, границы доверительного интервала для среднего значения показателя составили 6014 ± 7681 кг, математическое ожидание – 6847 кг. Это означает, что средний надой по 12 рассмотренным предприятиям на 2 % выше, чем в сельскохозяйственных организациях РФ (6728 кг), и на 10 % выше, чем в Чувашии (6186 кг, табл. 5, строки 1 и 4). Показатель ЗАО «Агрофирма «Ольдеевская»» 9,2 т (строка 3) практически соответствует лучшим европейским результатам (Дания – 9,6 т, Нидерланды – 8,7 т). Еще 3 производителя (строки 4, 6 и 10) имеют надой в диапазоне $7,8 \pm 8,2$ т, что ставит их на один уровень с Великобританией и Германией (8,1 и 7,7 т соответственно). Это означает, что треть из представленных в таблице предприятий показывает производительность на уровне ведущих государств ЕС.

Суммарный объем производства молока составляет 58,6 тыс. т или 13 % от валового показателя по республике – 442,6 тыс. т (табл. 1, строка 4). Ведущую роль в производстве молока в регионе играют малые формы хозяйствования, преимущественно личные подсобные хозяйства. Объем производства питьевого молока в Чувашии составляет 42,7 тыс. т (табл. 1, строка 9), т. е. 12 крупнейших производителей практически полностью обеспечивают выпуск данной продукции. При этих условиях мелкотоварные производители должны сдавать свою продукцию на переработку. Высшую оценку Роскачества получило питьевое молоко, произведенное ЗАО «Фирма Акконд-агро» из собственного сырья, т. е. по качеству

продукция сельскохозяйственных организаций не уступает фермерской и из личных подсобных хозяйств.

На основании материалов таблицы 6 рассчитали обобщенные показатели деятельности крупнейших производителей молока Чувашии:

1. Среднее число работников – 174, т. е. предприятия по масштабу относятся к средним. Среднее поголовье дойных коров – 714, при этом на 1 работника приходится более 4 коров. По факту цифра больше, поскольку молочное стадо, помимо фуражных животных, содержит молодняк (телок), стельных коров, производителей;

2. Средняя площадь сельскохозяйственных земель – 3,7 тыс. га на 1 предприятие или 5,1 га на 1 корову. С учетом того что для обеспечения кормом одной коровы нужно не более 1 га (чаще всего 0,35–0,5 га), можно предположить, что владельцы предприятий не только полностью обеспечивают себя кормами, но и диверсифицируют бизнес за счет параллельного занятия растениеводством. Особенно ярко диверсификация проявляется на примере крупнейшего производителя – Вурнарского мясокомбината (строка 1). Его основной специализацией является изготовление мясных деликатесов, колбасных изделий и консервов. Предприятие имеет крупнейшее в республике стадо крупного рогатого скота, но ранее молоко производилось в ограниченных объемах для обеспечения технологических нужд основного производства. В 2011 г. было реализовано всего 2050 т молока. Сегодня объем вырос более чем в 6 раз. Сельскохозяйственные земли площадью 20 тыс. га удовлетворяют не только все потребности в кормах, но и обеспечивают производство картофеля, зерна и овощей (продукты растениеводства составляют до 50 % валовой продукции предприятия). Несмотря на низкую рентабельность продаж (2,1 %) комбинат развился в крупный и эффективно работающий агрохолдинг. Малая величина показателя объясняется эффектом снижения доходности молочного производства по мере роста масштаба, а также ежегодными крупными инвестициями в собственное развитие: в 2018 г. введены в строй 3 помещения на 2400 голов крупного рогатого скота, в 2021 г. – телятник на 400 голов и т. д. (Постановление Кабинета Министров Чувашской Республики от 11.06.2020 № 311);

3. Средние значения надоя – 6847 кг, валового объема производства – 4885 т, выручки – 329,8 млн рублей, прибыли от продаж – 21,5 млн рублей на одно предприятие при средней рентабельности продаж 6,8 %. Для сравнения: в 2021 г. среднее значение последнего показателя по всем отраслям национальной экономики составило 5,1 %, в растениеводстве и животноводстве – 11,8 %, в производстве пищевых продуктов – 3,2 %, напитков – 3,5 % (данные аудиторского портала TESTFIRM). Средняя выручка на одного работника составила 1745 тыс. рублей, на

одну корову – 381 тыс. рублей, прибыль от продаж на одного работника – 154 тыс. рублей, на одну корову – 32 тыс. рублей. Среднюю цену реализации по имеющимся данным рассчитывать не нужно, поскольку предприятия ведут диверсифицированный бизнес и выпускают несколько видов альтернативной продукции, помимо молока.

Формат статьи не позволяет проанализировать показатели деятельности 10 ведущих предприятий Чувашии по переработке молока [15]. Сезонность производства молока создает проблемы в работе предприятий: в сезон «большого молока» (летний период) объемы производства возрастают на 10–30 %, избыток предложения порождает резкое снижение закупочных цен, а себестоимость продукции остается прежней, и производители терпят убытки. Наряду с субсидиями, выделяемыми личным подсобным хозяйствам, Правительство Чувашии оказывает господдержку предприятиям – переработчикам молока, но денежные выплаты они получают только за повышенные объемы переработки [19]. Размер субсидии составляет 808 рублей за одну тонну прироста переработки. Запланированный на 2022 г. объем господдержки (13 млн рублей) позволил увеличить суммарный объем переработки на 18 тыс. т, доведя его до 238 тыс. т [26]. За счет этих мер в регионе поддерживается стабильный уровень закупочных цен на молоко у населения. По данным Минсельхоза Чувашии, в январе 2022 г. цена составила 19–20 рублей/л, а в августе 18–19 рублей/л, т. е. сезонное снижение показателя было минимальным. Подробному рассмотрению данного вопроса целесообразно посвятить отдельную работу. Предметом настоящего исследования являлись процессы производства питьевого молока в регионе.

Выводы

Душевое производство и потребление молока в Чувашской Республике превышают общероссийский уровень. По показателям качества региональная продукция относится к лучшей в России. Объемы валового производства обеспечивают достижение рациональной нормы потребления, но фактический уровень потребления остается ниже рекомендуемой нормы, поскольку регион активно поставляет молоко в другие субъекты федерации.

Особенностью региона является более высокая, чем в среднем по РФ, доля сельского населения, активно занимающегося молочным скотоводством. Как следствие, число коров на душу населения в республике на 37 % выше, чем в целом по РФ, а более 60 % поголовья молочного стада содержится в личных хозяйствах. Личные подсобные хозяйства обеспечивают 55 % объемов перерабатываемого молока. Условия содержания коров (сезонный свободный выпас, питание натуральным зеленым кормом и пр.) обуславливают высокое качество продукции.

Ведущие предприятия республики по производству молока показывают результаты молочной продуктивности (7800–9200 кг), которые можно сравнить с лидерами европейского молочного рынка – Данией, Нидерландами, Великобританией и Германией. 12 крупнейших предприятий Чувашии способны обеспечить 100 % объема производства питьевого молока в республике (42,7 тыс. т по состоянию на 2021 г.). Следствием этого является ориентация личных подсобных хозяйств на продажу молока переработчикам – производителям сыра, масла, кисломолочной продукции и пр. Продукция сельскохозяйственных организаций по показателям качества не уступает фермерской.

Высокие показатели в сфере молочного производства достигнуты благодаря взвешенным мерам поддержки АПК, реализуемым правительством региона. Предусмотрено выделение субсидий как производителям молока (личные подсобные хозяйства – на содержание коров, крестьянские фермерские хозяйства – на приобретение племенного скота и пр.), так и его переработчикам (на увеличение объемов переработки). Благодаря проводимой политике в

регионе удалось уменьшить сезонные колебания закупочных цен на молоко, осложняющих условия работы мелких производителей.

Положительный опыт Чувашской Республики может быть применен при решении «молочной проблемы» в других субъектах федерации.

Критерии авторства

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

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Contribution

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

Conflict of interest

The authors declare that there is no conflict of interest.

References/Список литературы

1. Agarkova EYu, Ryazantseva KA, Kruchinin AG. Anti-diabetic activity of whey proteins. *Food Processing: Techniques and Technology*. 2020;50(2):306–318. (In Russ.). <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2020-2-306-318>
2. Maytakov AL, Sarafanov AA. Plant- and whey-based sustainable technology: Development potential. *Food Processing: Techniques and Technology*. 2020;50(2):261–272. (In Russ.). <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2020-2-261-272>
3. Shilov AI, Shilov OA. The production and consumption of milk and dairy products in Russia. Development dynamics and prospects. *Technology and Merchandising of the Innovative Foodstuff*. 2020;63(4):116–119. (In Russ.). [Шилов А. И., Шилов О. А. Производство и потребление молока и молочных продуктов в России. Динамика и перспективы развития // *Технология и товароведение инновационных пищевых продуктов*. 2020. Т. 63. № 4. С. 116–119.]. <https://elibrary.ru/ISKKCG>
4. Shinkareva OV, Mayorova EA. Evaluation of the needs of Russia in the production of milk and dairy products to ensure rational personal consumption norms. *Azimuth of Scientific Research: Economics and Administration*. 2020;9(1):395–397. (In Russ.). <https://doi.org/10.26140/anie-2020-0901-0099>
5. Kitaev YuA. Development trends of dairy cattle breeding in the Russian federation. *Vestnik of Voronezh State Agrarian University*. 2020;13(3):182–187. (In Russ.). <https://doi.org/10.17238/issn2071-2243.2020.3.182>
6. Suray NM, Mirgorodskaya MG, Kuraev AN, Burlankov PS, Melnikova YuV. Regional experience in supporting the development of agricultural consumer cooperation. *Food Processing: Techniques and Technology*. 2022;52(1):13–31. (In Russ.). <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2022-1-13-31>
7. Kishkina NI, Filimonova TV. Modern possibilities of improving the quality of dairy products. *Dairy Industry*. 2022;(9):8–9. (In Russ.). [Кишкина Н. И., Филимонова Т. В. Современные возможности повышения качества молочной продукции // *Молочная промышленность*. 2022. № 9. С. 8–9.]. <https://elibrary.ru/IFREXC>
8. Makeeva IA, Stratonova NV. Monitoring the quality of national dairy products. *Dairy Industry*. 2021;(1):28–29. (In Russ.). <https://doi.org/10.31515/1019-8946-2021-01-28-29>
9. The Best and the Worst Milk 2022 [Internet]. [cited 2022 Dec 20]. Available from: <https://rskrf.ru/news/luchshee-i-khudshee-moloko-2022-goda/?ysclid=lcqjujhh1o100248518>
10. Elemanova RSh. Seasonal changes in the protein composition of khainak milk. *Food Processing: Techniques and Technology*. 2022;52(3):555–569. (In Russ.). <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2022-3-2381>
11. Panasenkov SV, Suray NM, Tatochenko AL, Rodinova NP, Ostroukhov VM. Sustainable raw material base as a factor of competitiveness of cheese-making enterprises. *Food Processing: Techniques and Technology*. 2022;52(4):706–717. (In Russ.). <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2022-4-2400>

12. Mayorov AA, Musina ON. Efficient milk processing: hidden opportunities for growth. Dairy Industry. 2020;(10):6–10. (In Russ.). [Майоров А. А., Мусина О. Н. Эффективная переработка молока: скрытые возможности роста // Молочная промышленность. 2020. № 10. С. 6–10.]. <https://elibrary.ru/QIHXNJ>
13. Rybalova TI. The dairy industry of Russia in 2018. Dairy Industry. 2019;(1):4–9. (In Russ.). [Рыбалова Т. И. Молочная индустрия России в 2018 г. // Молочная промышленность. 2019. № 1. С. 4–9.]. <https://elibrary.ru/PPKZGD>
14. Panasenkov SV, Surai NM, Tatochenko AL, Terekhova AA, Sidorova ES. Analysis of indicators of milk production in terms of ensuring food security in Russia. Dairy Industry. 2022;(5):43–48. (In Russ.). <https://doi.org/10.31515/1019-8946-2022-05-43-48>
15. Milk production in the Russian Federation in 2019: Federal Service of State Statistics. Journal of Dairy and Beef Cattle Breeding. 2020;(3):24–26. (In Russ.). [Производство молока в Российской Федерации в 2019 году (по данным Росстата) // Молочное и мясное скотоводство. 2020. № 3. С. 24–26.]. <https://elibrary.ru/GKOAUH>
16. Kavas N. Yogurt-like product from lupine (*Lupinus albus* L.) milk as an alternative to dairy products. Foods and Raw Materials. 2022;10(2):377–385. <https://doi.org/10.21603/2308-4057-2022-2-546>
17. Ryabtseva SA, Tabakova YuA, Khramtsov AG, Anisimov GS, Kravtsov VA. Modelling formation and removal of biofilms in secondary dairy raw materials. Foods and Raw Materials. 2021;9(1):59–68. <https://doi.org/10.21603/2308-4057-2021-1-59-68>
18. Ryazantseva KA, Agarkova EYu, Fedotova OB. Continuous hydrolysis of milk proteins in membrane reactors of various configurations. Foods and Raw Materials. 2021;9(2):271–281. <https://doi.org/10.21603/2308-4057-2021-2-271-281>
19. Karimi E, Yari M, Ghaneialvar H, Kazemi HR, Asadzadeh R, Aidy A, et al. Effects of dust phenomenon on heavy metals in raw milk in western Iran. Foods and Raw Materials. 2020;8(2):241–249. <https://doi.org/10.21603/2308-4057-2020-2-241-249>
20. Belov AS, Voronin AA, Gruzdev AV, Zhebit MEh, Rozhkov RS, et al. Dairy Industry 2021. Moscow: Natsional'nyy soyuz proizvoditeley moloka; 2021. 388 p. (In Russ.). [Молочная отрасль 2021 / А. С. Белов [и др.]. М.: Национальный союз производителей молока, 2021. 388 с.].
21. Socio-economic situation of the Volga Federal District in 2021. Moscow: Rosstat; 2022. 82 p. (In Russ.). [Социально-экономическое положение Приволжского федерального округа в 2021 году. М.: Росстат, 2022. 82 с.].
22. Socio-economic indicators in Russia's regions. Moscow: Rosstat; 2022. 1122 p. (In Russ.). [Регионы России. Социально-экономические показатели. М.: Росстат, 2022. 1122 с.].
23. All-Russian Agricultural Census 2016. Volume 5: Farm livestock. Book 2: census by number of farm animals. Moscow: Statistika Rossii; 2018. 453 p. (In Russ.). [Итоги Всероссийской сельскохозяйственной переписи 2016 года. Том 5: Поголовье сельскохозяйственных животных. Кн. 2: Группировки объектов переписи по поголовью сельскохозяйственных животных. М.: Статистика России, 2018. 453 с.].
24. Minakov IA. Trends and prospects for the development of dairy cattle breeding in small forms of management. Economy of Agricultural and Processing Enterprises. 2022;(1):43–48. (In Russ.). <https://doi.org/10.31442/0235-2494-2022-0-1-43-48>
25. Kaleev NV, Kuchin NN, Generalov IG. State subsidies in the dairy cattle breeding industry of the Nizhny Novgorod region. Economics of Agriculture of Russia. 2020;(11):52–56. (In Russ.). <https://doi.org/10.32651/2011-52>
26. Leshchukov KA. Russian organic milk – myth, reality or new opportunities? Agrarian Bulletin of the Urals. 2019;184(5):48–53. (In Russ.). [Лещуков К. А. Российское органическое молоко – миф, реальность или новые возможности? // Аграрный вестник Урала. 2019. Т. 184. № 5. С. 48–53.]. <https://elibrary.ru/LQYPIR>
27. Dmitrieva EG, Mordvinova VA, Ivanova NV. Competition “Quality assurance – 2021”: Dairy products. Dairy Industry. 2022;(1):40–42. (In Russ.). [Дмитриева Е. Г., Мордвинова В. А., Иванова Н. В. Конкурс «Гарантия качества – 2021»: молочная продукция // Молочная промышленность. 2022. № 1. С. 40–42.]. <https://elibrary.ru/VWOGYQ>
28. Brikach GE. The law of diminishing returns under increased milk production in the Republic of Belarus. Economic Analysis: Theory and Practice. 2020;19(3):586–594. (In Russ.). <https://doi.org/10.24891/ea.19.3.586>
29. Svetlov NM. Sensitivity of Russia's agriculture to foreign trade policy. Economics of Agriculture of Russia. 2021;(9):17–22. (In Russ.). <https://doi.org/10.32651/219-17>
30. Konkina VS. External expansion of the dairy market: arguments “for” and “against”. Russian Economic Journal. 2022;(2):48–59. (In Russ.). <https://doi.org/10.33983/0130-9757-2022-2-48-59>
31. New state support for dairy farms to appear in Chuvashia [Internet]. [cited 2022 Dec 20]. Available from: <https://cap.ru/news/2022/01/26/dlya-predpriyatij-molochnoj-otrasli-chuvashii-poya?ysclid=ld1wgrtlix271213111>

<https://doi.org/10.21603/2074-9414-2023-4-2470>
<https://elibrary.ru/YJAMGO>

Оригинальная статья
<https://fppt.ru>

Влияние миграции зоны наименьшего прогревания на кинетику теплофизических процессов пищевых систем



**В. В. Кондратенко^{id}, Н. Е. Посокина*^{id}, А. И. Захарова^{id},
А. А. Королев^{id}, Г. П. Покудина^{id}**

Всероссийский научно-исследовательский институт технологии консервирования^{ROR}, Видное, Россия

Поступила в редакцию: 20.09.2022

Принята после рецензирования: 14.04.2023

Принята к публикации: 02.05.2023

*Н. Е. Посокина: labtech45@yandex.ru,

<https://orcid.org/0000-0002-7857-6785>

В. В. Кондратенко: <https://orcid.org/0000-0002-0913-5644>

А. И. Захарова: <https://orcid.org/0000-0002-2336-1816>

А. А. Королев: <https://orcid.org/0000-0002-7144-2522>

Г. П. Покудина: <https://orcid.org/0000-0002-5692-7839>

© В. В. Кондратенко, Н. Е. Посокина,
А. И. Захарова, А. А. Королев, Г. П. Покудина, 2023



Аннотация.

Миграция зоны наименьшего прогревания (англ. Slowest Heating Zone, SHZ) для пищевых систем с конвективным и преимущественно конвективным теплообменом позволяет сделать предположение о том, что в случае следования термопары за миграцией этой зоны летальность процесса будет отличаться от значения, рассчитанного исходя из фиксированного местоположения термопары. Возникает необходимость учета миграции SHZ при определении режимов тепловой обработки пищевых систем. Работа посвящена исследованию наличия статистически значимого отличия летальностей для фиксированной и мигрирующей SHZ в различных пищевых системах.

В качестве объектов исследования использовали четыре гомофазные и гетерофазные модельные пищевые системы. Изменение температуры отслеживали с помощью многоканальной системы E-ValPro и датчиков температуры SSA-TS. Датчики температуры располагали внутри банки с пищевой системой, фиксируя их на определенной высоте.

Анализ данных показал отсутствие значимой разницы летальностей на всей исследованной области определения температур стерилизации для модельной системы FS1. В отношении остальных модельных систем можно говорить о наличии интервалов температур стерилизации, на которых разницы летальностей статистически существенна. Несмотря на наличие интервалов температур, которым соответствуют статистически значимые разности летальностей для модельных систем FS2, FS3 и FS4, для первых двух систем величина данной разницы мала. Наибольшая разность на всем диапазоне варьирования соответствует модельной системе FS4, что связано с влиянием вовлекаемой в конвективный поток дисперсной фазой.

Статистически значимое отличие летальностей для фиксированной и мигрирующей SHZ имеет место только в гетерофазных пищевых системах с конвективным и преимущественно конвективным теплообменом с вовлекаемой в конвекционный поток дисперсной фазой. Данный факт необходимо учитывать при разработке режимов термической обработки указанных пищевых систем.

Ключевые слова. Зона, прогрев, кинетика, летальность, теплофизические процессы, режимы, термическая обработка

Финансирование. Работа выполнена в рамках реализации плана фундаментальных исследований по теме FNEN-2019-00011.

Для цитирования: Влияние миграции зоны наименьшего прогревания на кинетику теплофизических процессов пищевых систем / В. В. Кондратенко [и др.] // Техника и технология пищевых производств. 2023. Т. 53. № 4. С. 731–741. <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2023-4-2470>

Effect of the Slowest Heating Zone Movement on Thermophysical Kinetics in Food Systems



Vladimir V. Kondratenko^{ID}, Natalia E. Posokina*^{ID},
Anna I. Zakharova^{ID}, Aleksei A. Korolev^{ID}, Galina P. Pokudina^{ID}

All-Russian Research Institute of Canning Technology^{ROR}, Vidnoe, Russia

Received: 20.09.2022

Revised: 14.04.2023

Accepted: 02.05.2023

*Natalia E. Posokina: labtech45@yandex.ru,

<https://orcid.org/0000-0002-7857-6785>

Vladimir V. Kondratenko: <https://orcid.org/0000-0002-0913-5644>

Anna I. Zakharova: <https://orcid.org/0000-0002-2336-1816>

Aleksei A. Korolev: <https://orcid.org/0000-0002-7144-2522>

Galina P. Pokudina: <https://orcid.org/0000-0002-5692-7839>

© V.V. Kondratenko, N.E. Posokina, A.I. Zakharova,
A.A. Korolev, G.P. Pokudina, 2023



Abstract.

The slowest heating zone tends to move about in food systems with convective and predominantly convective heat transfer. If the thermocouple follows the movement, the process lethality differs from the value precalculated for a fixed thermocouple location. Hence, the heat treatment modes depend on the movement of the slowest heating zone, which should be taken into account before planning food system processes. This research aimed at identifying a statistically significant difference between lethality for fixed and moving slowest heating zones in various food systems.

The study involved four homophasic and heterophasic model food systems. Food System 1 was heterophase, with a dispersed phase not involved in convection and a liquid dispersion medium of aqueous solution with 1.5% sucrose and 1.5% NaCl. Food System 2 was heterophase, with a dispersed phase not involved in convection and a liquid dispersion medium of 11% aqueous sucrose solution. Food System 3 was represented by homophase reconstituted clarified baby-food apple juice with 11.2% soluble solids. Food System 4 was a heterophase model system, represented by reconstituted baby-food apple juice with pulp and 11.2% soluble solids with a dispersed phase involved in convection. The temperature changes were monitored using the E-ValPro multichannel system and the SSA-TS model temperature sensors. The temperature sensors were fixed inside the jar with the food system.

Food System 1 showed no significant differences in lethality. Other model systems had sterilization temperature intervals when the difference in lethality was statistically significant. However, this difference was very small for Food Systems 2 and 3. The largest difference belonged to Food System 4, where the dispersed phase was involved in the convective flow.

In this research, a statistically significant difference in lethality for fixed and moving slowest heating zones occurred only in heterophase food systems with convective and predominantly convective heat exchange, where the dispersed phase was involved in the convection flow. This fact must be taken into account when identifying heat treatment modes for such food systems.

Keywords. Zone, heating, kinetics, lethality, thermophysical processes, modes, heat treatment

Funding. The work was part of fundamental research on topic FNEN-2019-00011.

For citation: Kondratenko VV, Posokina NE, Zakharova AI, Korolev AA, Pokudina GP. Effect of the Slowest Heating Zone Movement on Thermophysical Kinetics in Food Systems. Food Processing: Techniques and Technology. 2023;53(4):731–741. (In Russ.). <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2023-4-2470>

Введение

Теплофизические процессы пищевых систем изучаются давно. Успешными являются исследования, которые касаются термической обработки твердых пищевых продуктов, т. к. для моделирования использовалась классическая модель теплообмена, базирующаяся на эффективном коэффициенте теплопроводности. В отличие от твердых продуктов

идентификация в зоне наименьшего прогревания (Slowest Heating Zone, SHZ) для жидких пищевых систем считается сложной задачей. Когда жидкие пищевые продукты подвергаются термической обработке, то движение жидкости ускоряет термическую обработку за счет увеличения скорости теплопередачи [1]. Целесообразность учета миграции SHZ в процессе тепловой обработки для определения

режимов стерилизации в таких системах отсутствует если теплопередача жидкости может регулироваться не только изменением температур, но и движением жидкости [2].

На рисунке 1 показано наличие конвекции при термической обработке жидких пищевых продуктов с помощью CFD-моделирования при условии зависимости движения жидкости от гидростатической силы. На начальном этапе жидкость у стенки находится в состоянии покоя. Как только внешняя стенка нагревается, то нагревается жидкость у стенки за счет теплопроводности (почти до температуры стенки) пока жидкость в центре ёмкости все еще имеет начальную температуру. В процессе термической обработки гидростатическая сила подавляется силой вязкого трения. Поле скорости конвективного потока зависит от соотношения сил: сопротивления потоку вязкости жидкости и гидростатической силы. Вязкость, которая зависит от температуры, уменьшается в процессе нагрева, что приводит к более быстрому нагреванию жидкости внутри упаковки за счет увеличения скорости. Поскольку температура продукта становится однородной, то гидростатические силы уменьшаются. Это приводит к прекращению циркуляции и снижению скорости потока у стенок упаковки. В результате SHZ смещается в нижнюю часть объема жидкости, а при температурах, которые влияют на термоинактивацию, перемещается ко дну упаковки. Циркуляционных контуров на

графическом отображении результатов моделирования не показано [1, 3–6].

При определении режимов стерилизации одной из основных задач является достижение промышленной стерильности консервов, которое возможно если значение фактической летальности ($F_{\text{факт}}$) будет больше или равно значению требуемой летальности ($F_{\text{треб}}$). $F_{\text{факт}}$ определяют экспериментально путем измерения температуры продукта в SHZ в процессе термообработки и таких параметров, как z – температурный параметр термоустойчивости микроорганизмов и T_0 – базисная температура [7–10]. Величина фактического летального эффекта зависит от температурного параметра тест-культуры микроорганизмов, по отношению к которому рассчитывается эффект термической обработки [11–14]. Базовым показателем для создания условий гарантированной термической инактивации целевой микрофлоры является динамика температуры в процессе термической обработки – динамика прогреваемости [15–18].

Режимы термической обработки определяются способом нагрева и физическими свойствами продукта. В консервной промышленности точный анализ механизма теплопередачи поможет улучшить качество продукта и оптимизировать условия процесса. Механизмами теплопередачи упакованного продукта являются проводимость для твердых веществ и жидких продуктов с высокой вязкостью, естественная конвекция для жидких продуктов с низкой вязкостью,

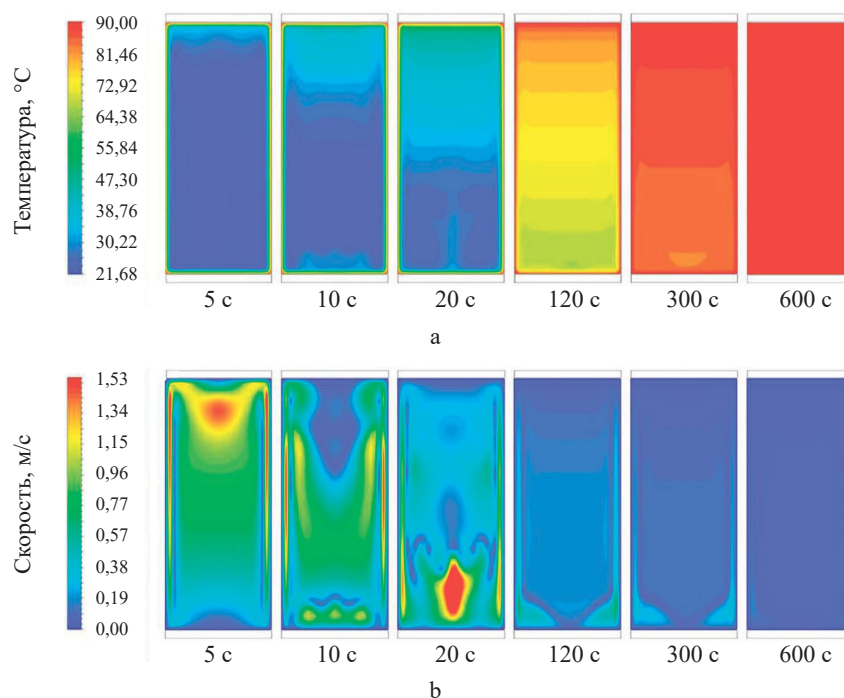


Рисунок 1. Профили изменения температуры (а) и скорости (б) при стерилизации жидких пищевых продуктов через 5, 10, 20, 120, 300 и 600 с [1]

Figure 1. Temperature (a) and speed (b) profiles of liquid food products: 5, 10, 20, 120, 300, and 600 s after the onset of sterilization [1]

конвекция и теплопроводность для жидких продуктов с твердыми частицами и конвекцией. Важным фактором является отношение теплопроводности дисперсной фазы, стенок и дисперсионной среды [19, 20].

На теплообмен влияет геометрия упаковки, особенно в отношении конвективных потоков. Если использовать упаковку с другим соотношением высоты и диаметра, то необходимое время стерилизации будет варьироваться [21]. При условии неизменности локализации SHZ в продуктах с преимущественным теплообменом, осуществляемым теплопроводностью, определение динамики прогрессивности обуславливается геометрией упаковки и техническими характеристиками датчиков температуры. Изменение локализации SHZ в процессе тепловой обработки может вызывать конвективные потоки. В процессе обработки гомофазных продуктов с конвективным теплообменом имеет место нелинейная динамика локализации SHZ. В гетерофазных продуктах имеет место дополнительный фактор: механические частицы дисперсной фазы, представленные твердым агрегатным состоянием, которые нарушают общую динамику тепловых конвекционных потоков. Из-за этого неизбежна динамика локализации SHZ в процессе термической обработки.

Большинство консервированных продуктов относятся к гетерофазным системам, в которых при нагревании возникают конвективные потоки Рэлея – Бенара. В плоском горизонтальном слое жидкости возникает естественная конвекция, а нагрев продукта идет снизу [22]. Возможность возникновения и развитие конвективных потоков при тепловой обработке является ключевым фактором теплообмена любой гетерофазной системы с жидкой дисперсионной средой, динамика которой выражается вязкостью, геометрией упаковки, плотностью и др. Например, наличие твердых частиц в упаковке заставляет мигрировать SHZ из-за трудности движения жидкости за счет естественной конвекции [23].

Для пищевых систем с конвективным и преимущественно конвективным теплообменом, в которых происходит миграция SHZ, летальность процесса будет отличаться от значения, рассчитанного исходя из фиксированного местоположения термопары при ее следовании за миграцией этой зоны. Следовательно, при определении режимов тепловой обработки необходимо учитывать миграцию SHZ.

Данная работа посвящена исследованию наличия статистически значимого отличия летальностей для фиксированной и мигрирующей зон.

Объекты и методы исследования

В качестве объектов исследования использовали модельные пищевые системы. Данные системы поместили в стеклянные банки с винтовым типом укупорки (венчик горловины типа III) вместимостью нетто 190 мл, диаметр крышки 52 мм. В качестве модельных систем применили следующие:

- FS1 – гетерофазная модельная система, включающая невовлекаемую в конвекцию дисперсную фазу (полиакриловые шары Ø 8мм) и жидкую дисперсионную среду (водный раствор с 1,5 % сахарозы и 1,5 % NaCl);
- FS2 – гетерофазная модельная система, включающая невовлекаемую в конвекцию дисперсную фазу (полиакриловые шары Ø 8мм) и жидкую дисперсионную среду (11 %-ый водный раствор сахарозы);
- FS3 – гомофазная модельная система, представленная восстановленным осветленным яблочным соком для детского питания промышленного производства (11,2 % растворимых сухих веществ);
- FS4 – гетерофазная модельная система, представленная восстановленным яблочным соком с мякотью для детского питания промышленного производства (11,2 % растворимых сухих веществ), включающая вовлекаемую в конвекцию дисперсную фазу.

В гетерофазных модельных системах с невовлекаемой в конвекцию дисперсной фазой ее масса составила 174,4 г.

Объекты исследования помещали в стеклянные банки, в крышке закрепляли штуцер-переходник для герметизированного введения термопары Ø 1,2 мм. Данную термопару устанавливали по центральной оси банки на геометрической высоте от дна. Формирование массива данных для учета миграции SHZ осуществляли для каждой температуры термостатирования при локализации термопары на геометрической высоте, значения которой представлены в таблице 1.

Контроль температуры в процессе тепловой обработки осуществляли с помощью многоканальной системы E-Val Pro (производитель ELLAB A/S, Дания) и датчиков температуры SSA-TS с диапазоном измерений от –20 до +135 °С. Температуры прогрева фиксировали в автоматическом режиме с дискретностью 30 с.

Динамика прогрева включала два этапа: этап собственно нагрева и этап охлаждения. Этап нагрева для модельных систем FS1, FS2 и FS3 составил 30 мин,

Таблица 1. Геометрическая высота локализации термопары для определения динамики прогрессивности модельных систем с учетом миграции SHZ

Table 1. Geometric height of thermocouple localization: identifying the heating dynamics of model systems based the slowest heating zone movement

Модельная система	Температура термостатирования, °С	Геометрическая высота локализации термопары, мм
FS1	75, 80, 85, 90, 95	3, 6, 9, 12, 15, 18
FS2	75, 80, 85, 90, 95	3, 6, 9, 12, 15, 18
FS3	75, 80, 85, 90, 95	3, 6, 9, 12, 18, 24
FS4	75, 80, 85, 90, 95	12, 18, 24, 30, 36

для модельной системы FS4 – 55 мин. Этап охлаждения для модельных систем FS1, FS2 и FS3 составил 10 мин, для модельной системы FS4 – 15 мин.

Прогревы всех пищевых систем проводили в водяном термостате MLW (Польша) в изотермических условиях при одинаковой начальной температуре содержимого в банке $30,0 \pm 0,1$ °С. Охлаждение проводили при температуре теплоносителя $21,0 \pm 0,1$ °С.

Для уменьшения статистической погрешности каждый эксперимент проводили в пятикратной повторности с отсеиванием статистически недостоверных данных.

Математическую обработку проводили с использованием оригинального программного обеспечения, прилагаемого к аналитическому оборудованию, а также специализированного программного обеспечения TableCurve 2D v.5.01 (SYSTAT Software Inc.), Wolfram Mathematica 10.4 и табличного процессора Microsoft Excel 2010 (Microsoft Corporation) со встроенным языком программирования VBA.

Результаты и их обсуждение

Х. Zhu и Q. Zhou выявили наличие миграции SHZ как для гомофазных, так и для гетерофазных пищевых систем [22]. Это позволяет сделать предположение о том, что в случае следования термопары за миграцией и SHZ летальность тепловой обработки будет отличаться от рассчитанной на основе динамики прогревов, определенной при фиксированном местоположении термопары.

На первом этапе для объектов исследования определили значения летальности при каждом значении температуры стерилизации (табл. 1). На основании данных экспериментальных термограмм прогревов FS и формулы (1) рассчитали значения летальностей F для всех модельных систем при каждой t_{st} (табл. 2).

$$F = \sum_{i=2}^n (t_i - t_{i-1}) \times 10^{\frac{t_i - t_{ref}}{z}} \quad (1)$$

где t – температура в SHZ, °С; t_{ref} – референтная температура, °С; z – показатель термоустойчивости тест-культуры микроорганизмов, °С; n – количество точек наблюдения в термограмме. Для расчетов значения t_{ref} принимали равным 80 °С, z – 15 °С.

На основании полученных данных для каждой модельной системы определили математические описания зависимости летальности в результате тепловой обработки от температуры стерилизации. Математическое описание, удовлетворяющее статистическим критериям, имеет вид

$$\lg F = a + b \times (t_{st} - t_{ref}) \quad (2)$$

где a и b – коэффициенты; t_{st} – температура теплоносителя, °С; t_{ref} – референтная температура, °С. В качестве референтной температуры принято значение, использованное при расчете летальности, – 80 °С.

Значения коэффициентов и их статистические характеристики, а также статистические характеристики полученных зависимостей представлены в таблице 3.

Таблица 2. Значения летальностей в результате тепловой обработки модельных систем при фиксированной локализации SHZ для заданных температур стерилизации

Table 2. Lethality after heat treatment for given sterilization temperatures: model systems with fixed slowest heating zone

Модельная система	Геометрическая высота фиксированной SHZ, мм от дна	Летальность, усл. мин				
		75 °С	80 °С	85 °С	90 °С	95 °С
FS1	7	5,78	12,21	25,94	54,90	118,62
FS2	7	5,85	11,92	25,39	53,31	117,93
FS3	7	5,13	10,75	22,59	42,28	102,58
FS4	18	10,30	22,19	46,80	103,98	223,72

Таблица 3. Статистические характеристики зависимостей летальностей в результате тепловой обработки модельных систем при фиксированной локализации SHZ от температуры стерилизации

Table 3. Effect of sterilization temperature on lethality after heat treatment: model systems with fixed slowest heating zone

Модельная система		Коэффициенты		Статистика	
		a	b	r^2	$P > F$
FS1	значение	1,082088019	0,066123723	0,9999679629	< 0,00001
	$P > t $	< 0,00001	< 0,00001		
FS2	значение	1,072428903	0,066603754	0,9997314926	< 0,00001
	$P > t $	< 0,00001	0,00001		
FS3	значение	1,028718861	0,065488505	0,9999954006	< 0,00001
	$P > t $	< 0,00001	< 0,00001		
FS4	значение	1,348145259	0,066776881	0,9999432521	< 0,00001
	$P > t $	< 0,00001	< 0,00001		

Анализ статистических данных показывает, что полученные математические описания адекватны как в части коэффициентов по критерию Стьюдента, так и по критерию Фишера, а также хорошо аппроксимируют исходные данные.

Определение летальностей для модельных систем с учетом миграции SHZ в процессе тепловой обработки затруднено из-за отсутствия как аппаратной, так и программной возможности непосредственного определения. В связи с этим для каждой модельной системы при каждом значении температуры термостатирования (стерилизации) по временным протоколам, идентичным модельным системам с фиксированной SHZ, было получено несколько термограмм. Каждая из них соответствовала своей геометрической высоте локализации термодпары по вертикальной оси банки.

Каждая термограмма включала в себя как область нагрева, так и область охлаждения. Совокупность данных каждой термограммы аппроксимировали, следуя общему принципу:

$$t = \begin{cases} t_H, & \tau \leq \tau_{H(\max)} \\ t_C, & \tau > \tau_{H(\max)} \end{cases} \quad (3)$$

где t – температура модельной системы в зоне локализации термодпары, °C; t_H – температура, соответствующая области нагрева, °C; t_C – температура,

соответствующая области охлаждения, °C; $\tau_{H(\max)}$ – максимальная продолжительность нагрева, с.

Динамику температуры в зоне локализации термодпары для каждой из областей описывали обобщенной функцией вида

$$f(\tau) = (t_{\max} - t_{\min}) \times \exp\{-\exp[-d(\tau)]\} + t_{\min} \quad (4)$$

где $t_{\max}$ и $t_{\min}$ – максимальная и минимальная температуры области термограммы соответственно, °C; $d(\tau)$ – эмпирическая функция, аппроксимирующая экспериментальные данные, которые предварительно закодировали следующим образом:

$$d_i = -\ln \left[-\ln \left(\frac{t_i - t_{\min}}{t_{\max} - t_{\min}} \right) \right] \quad (5)$$

Однако каждая полученная обобщенная функция соответствовала своей фиксированной геометрической высоте локализации термодпары в модельной системе. Для получения массива данных по промежуточным значениям геометрических высот была выполнена линейно-кусочная аппроксимация в среде Microsoft Excel с дискретизацией продолжительности тепловой обработки с шагом 1 с и промежуточных значений геометрической высоты с шагом 0,02 мм для FS1, FS2 и FS3 и 0,03 мм для FS4 для областей нагрева (уравнение 6) и охлаждения (уравнение 7):

$$t_H = \begin{cases} t_{h(i)} = f_{h(i)}(\tau) |_{i=1,2,\dots} \\ t_{i,j} = \frac{h_j - h_{i-1}}{h_i - h_{i-1}} \times [f_{h(i)}(\tau) - f_{h(i-1)}(\tau)] + f_{h(i-1)}(\tau), & h_{i-1} < h_j < h_i |_{i=2,3,\dots} \end{cases} \quad (6)$$

$$t_C = \begin{cases} t_{h(i)} = f_{h(i)}(\tau) |_{i=1,2,\dots} \\ t_{i,j} = \frac{h_j - h_{i-1}}{h_i - h_{i-1}} \times [f_{h(i)}(\tau) - f_{h(i-1)}(\tau)] + f_{h(i-1)}(\tau), & h_{i-1} < h_j < h_i |_{i=2,3,\dots} \end{cases} \quad (7)$$

где h_i и h_{i-1} – фиксированные (экспериментальные) значения геометрической высоты локализации термодпары, мм; h_j – промежуточное значение геометрической высоты, мм.

Таким образом, были получены массивы данных $i \times j$ размером 1800×751 (для каждого варианта FS1 и $t_{st} = 75^\circ\text{C}$ для FS2), 1800×801 (для каждого из остальных вариантов FS2), 1800×1501 (для каждого варианта FS3) и 4200×801 (для каждого варианта FS4).

Для каждого i -го момента времени для каждого j -го дискретного значения геометрической высоты локализации термодпары был рассчитан критерий сходимости q :

$$q_{i,j} = |h_j - f_m(t_{i,j})| \quad (8)$$

где h_j – j -е дискретное значение геометрической высоты массива данных, мм; $f_m(t_i)$ – расчетное зна-

чение геометрической высоты локализации мигрирующей SHZ, соответствующее значению массива температур с координатами i и j , °C.

Для каждой модельной системы использовали соответствующую ему функциональную зависимость геометрической высоты локализации мигрирующей SHZ от температуры, которую определили ранее.

Таким образом, каждому массиву температур соответствовал равнозначный по размеру массив значений критерия сходимости. На основании данных пар массивов получили возможность для каждого i -го момента времени определить значение температуры в зоне с геометрической высотой:

$$t_i = t_{i,j} |_{j: \min(q_{i,j})} \quad (9)$$

В соответствии с логикой использованного подхода полученные массивы значений температуры

в совокупности формировали термограммы мигрирующих SHZ, на основании которых выполняли последующие расчеты.

На основании полученных термограмм по формуле (1) определили значения летальностей с учетом миграции SHZ для каждой температуры стерилизации. Результаты расчетов представлены в таблице 4.

Анализ материалов таблицы позволяет сделать вывод о том, что зависимость летальности от температуры стерилизации для всех исследованных модельных систем по своему виду эквивалентна таковой для вариантов с фиксированной локализацией SHZ. Для подтверждения этого полученные данные были аппроксимированы функцией (1). Результаты аппроксимаций и их статистические характеристики представлены в таблице 5.

Анализ статистических данных показывает, что полученные математические описания адекватны как в части коэффициентов по критерию Стьюдента, так и по критерию Фишера, а также аппроксимируют исходные данные.

При аппроксимации значений летальности от температуры стерилизации в вариантах как с фиксированной, так и с мигрирующей SHZ средствами пакета Table Curve 2D в каждой дискретной точке в расчетном интервале температур стерилизации от 70 до 100 °C с интервалом 0,01 °C определили значения доверительных интервалов при $\alpha \leq 0,05$ и их

верхние и нижние границы. В силу того, что функция зависимости летальности от температуры для мигрирующей SHZ в сходственных точках имеет априори меньшие значения, чем для фиксированной SHZ, то основным условием статистической значимости разницы летальностей между двумя полученными зависимостями является следующее:

$$F_m(t) + CI_m(t) < F_f(t) - CI_f(t) \quad (10)$$

где $F_m(t)$ и $F_f(t)$ – значения летальностей в модельных системах с мигрирующей и фиксированной SHZ соответственно при температуре стерилизации t , усл. мин; $CI_m(t)$ и $CI_f(t)$ – значения доверительного интервала для модельных систем с мигрирующей и фиксированной SHZ соответственно при температуре стерилизации t , усл. мин.

Данные по интервалам температур стерилизации для каждой из модельных сред, соответствующих статистически значимой разности летальностей, представлены в таблице 6.

Анализ полученных данных показывает отсутствие значимой разницы летальностей на всей исследованной области определения значений температур стерилизации для модельной системы FS1, т. е. для данной модельной системы практически отсутствует целесообразность учета миграции SHZ в процессе тепловой обработки для установления режимов стерилизации. Графические данные по взаимному расположению кривых, соответствующих зависимостям летальности от температуры стерилизации с учетом и без учета миграции SHZ для модельной системы FS1, представлены на рисунке 2.

В отношении остальных модельных систем можно говорить о наличии интервалов температур стерилизации, на которых разница летальностей статистически существенна. Графические данные по взаимному расположению кривых, соответствующих зависимостям летальности от температуры стерилизации с учетом и без учета миграции SHZ для модельных систем FS2, FS3 и FS4, представлены на рисунках 3–5.

Таблица 4. Значения летальностей в результате тепловой обработки модельных систем с учетом миграции SHZ для заданных температур стерилизации

Table 4. Lethality after heat treatment for given sterilization temperatures: model systems with moving slowest heating zone

Модельная система	Летальность, усл. мин				
	75 °C	80 °C	85 °C	90 °C	95 °C
FS1	5,58	12,07	25,79	54,71	114,09
FS2	5,44	11,74	24,40	51,79	110,25
FS3	4,84	9,96	21,51	46,31	100,71
FS4	8,44	16,03	36,43	84,87	125,35

Таблица 5. Статистические характеристики зависимостей летальностей в результате тепловой обработки модельных систем с учетом миграции SHZ от температуры стерилизации

Table 5. Effect of sterilization temperature on lethality after heat treatment: model systems with moving slowest heating zone

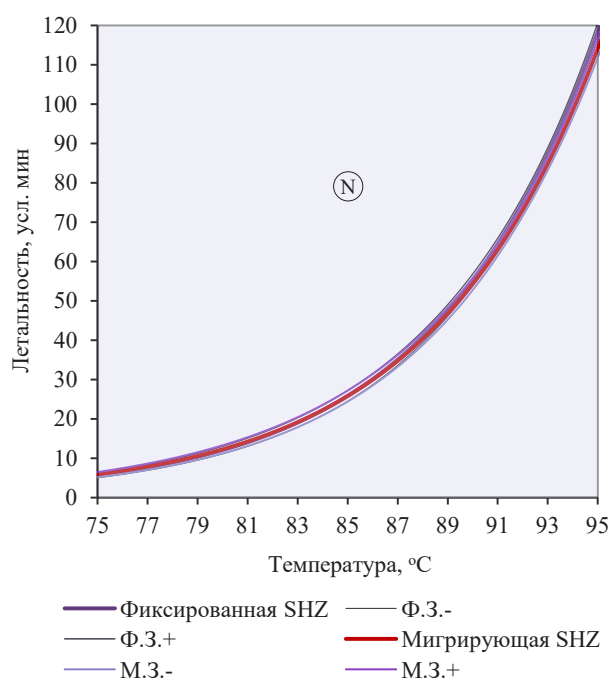
Модельная система		Коэффициенты		Статистика	
		a	b	r^2	$P > F$
FS1	значение	1,088844058	0,064576240	0,9999618494	< 0,00001
	$P > t $	< 0,00001	< 0,00001		
FS2	значение	1,060848451	0,065425607	0,9999909250	< 0,00001
	$P > t $	< 0,00001	< 0,00001		
FS3	значение	0,995993634	0,067125749	0,9999825775	< 0,00001
	$P > t $	< 0,00001	< 0,00001		
FS4	значение	1,200220697	0,072830723	0,9992640617	0,00037
	$P > t $	0,00025	0,00080		

Несмотря на наличие интервалов температур, которым соответствуют статистически значимые разности летальностей для модельных систем FS2, FS3 и FS4, для первых двух систем величина данной разницы крайне мала.

Таблица 6. Интервалы температуры стерилизации, на которых разница летальностей при тепловой обработке модельных систем с учетом фиксированной и мигрирующей SHZ статистически существенна

Table 6. Sterilization temperature intervals with statistically significant lethality difference during heat treatment: model systems with fixed vs. moving slowest heating zones

Модельная система	Интервал температуры стерилизации, °C	
	Начало	Окончание
FS1	–	–
FS2	91,41	97,26
FS3	87,38	94,44
FS4	75,40	94,36



Примечание. Ф.З.- и Ф.З.+ – нижняя и верхняя границы доверительного интервала для фиксированной SHZ соответственно; М.З.- и М.З.+ – нижняя и верхняя границы доверительного интервала для мигрирующей SHZ соответственно; S и N – диапазоны температур стерилизации, в которых разница летальностей между вариантами с фиксированной и мигрирующей SHZ статистически существенна и несущественна соответственно

Рисунок 2. Влияние температуры стерилизации на величину летальности при тепловой обработке FS1, определенной в фиксированной SHZ и с учетом ее миграции

Figure 2. Effect of sterilization temperature on lethality value for Food System 1: fixed vs. moving slowest heating zones

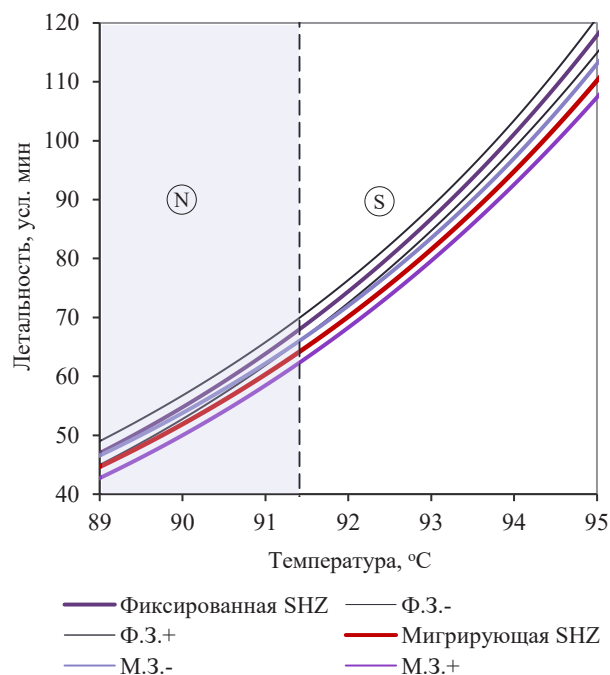


Рисунок 3. Влияние температуры стерилизации на величину летальности при тепловой обработке FS2, определенной в фиксированной SHZ и с учетом ее миграции

Figure 3. Effect of sterilization temperature on lethality value for Food System 2: fixed vs. moving slowest heating zones

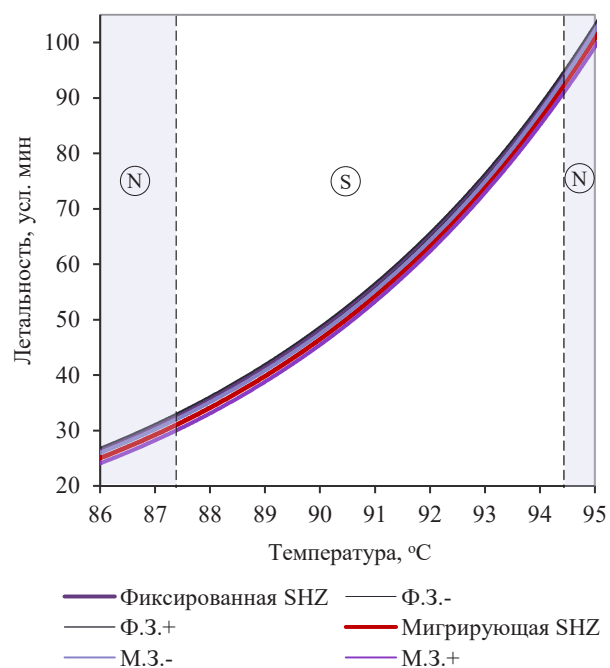


Рисунок 4. Влияние температуры стерилизации на величину летальности при тепловой обработке FS3, определенной в фиксированной SHZ и с учетом ее миграции

Figure 4. Effect of sterilization temperature on lethality value for Food System 3: fixed vs. moving slowest heating zones

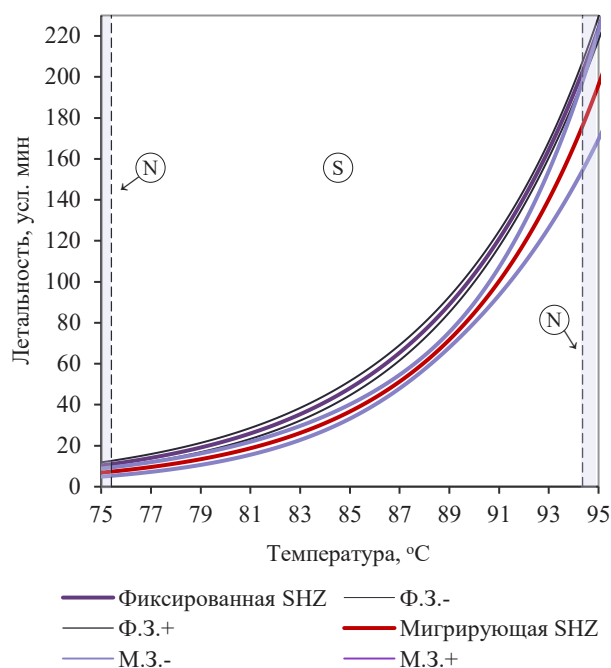


Рисунок 5. Влияние температуры стерилизации на величину летальности при тепловой обработке FS4, определенной в фиксированной SHZ и с учетом ее миграции

Figure 5. Effect of sterilization temperature on lethality value for Food System 4: fixed vs. moving slowest heating zones

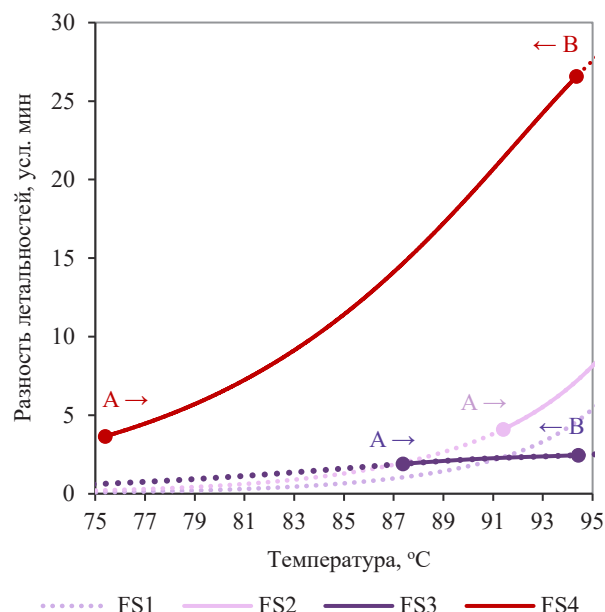
Таблица 7. Интервалы температуры стерилизации, на которых разница летальностей при тепловой обработке модельных сред с учетом фиксированной и мигрирующей SHZ статистически существенна

Table 7. Sterilization temperature intervals with statistically significant lethality difference during heat treatment: fixed vs. moving slowest heating zones

Модельная система	Интервал температур, °C	Максимальная разность летальностей, усл. мин
FS1	–	–
FS2	5,85	8,14
FS3	7,06	2,50
FS4	18,96	26,55

На рисунке 6 представлены данные по влиянию температуры стерилизации на разность летальностей.

Анализ представленных данных показывает, что наибольшая разность на всем диапазоне варьирования соответствует модельной системе FS4, что связано с влиянием вовлекаемой в конвективный поток дисперсной фазой. Присутствие сложной взаимосвязи между возмущением конвекционного потока мелкодисперсной мякотью выражено нелинейной суперпозицией конвективного теплообмена в объеме дисперсионной среды и теплообмена, а также тепло-



Примечание. Пунктирные линии – влияние температуры на разность летальностей на всей области определения; сплошные линии – статистически значимые значения разности летальностей при $\alpha \leq 0,05$; A и B – начало и окончание интервала температур стерилизации соответственно, на котором разности летальностей статистически значимы при $\alpha \leq 0,05$

Рисунок 6. Влияние температуры стерилизации на разность летальностей между вариантами с фиксированной и мигрирующей SHZ

Figure 6. Effect of sterilization temperature on lethality difference: fixed vs. moving slowest heating zones

проводностью в объеме каждой частицы дисперсной фазы в процессе тепловой обработки.

Совокупное представление об интегральной значимости учета миграции SHZ для разработки режимов тепловой стерилизации можно получить из анализа эффективного интервала температур и максимальной разности летальностей (табл. 7)

Для модельных систем характерен минимум максимальной разности летальностей на уровне, не превышающем 8,14 усл. мин, при одновременном минимуме эффективного интервала температур, на котором эта разность статистически значима.

Таким образом, при разработке режимов стерилизации из всех исследованных вариантов целесообразно учитывать миграцию SHZ только для одной группы пищевых систем – гетерофазных с конвективным и преимущественно конвективным теплообменом и с вовлекаемой в конвекционный поток дисперсной фазой.

Выводы

Миграция SHZ для пищевых систем с невовлекаемой в конвекцию дисперсной фазой (FS1, FS2, FS3) выявляется в периоды начала нагрева и охлаждения

при температурах, не влияющих на термоинактивацию микроорганизмов. При разработке режимов стерилизации из всех исследованных вариантов целесообразно учитывать миграцию зоны наименьшего прогревания только для одной группы пищевых систем – гетерофазных с конвективным и преимущественно конвективным теплообменом и с вовлекаемой в конвекционный поток дисперсной фазой (FS4), таких как плодово-ягодные и овощные соки с мякотью. Расчет режимов стерилизации без учета конвекции может привести к длительной температурной обработке и получению продукта с измененными качественными характеристиками. Для этой группы пищевых систем необходимо определение локализации SHZ для каждого вида продукта, объема и типа упаковки.

Критерии авторства

Все авторы в равной степени принимали участие в написании рукописи и несут ответственность за достоверность информации и уникальность разработок.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Contribution

All the authors equally participated in the research and are equally responsible for the accuracy of the information and any potential cases of plagiarism.

Conflict of interest

The authors declared no conflict of interests regarding the publication of this article.

References/Список литературы

1. Park HW, Yoon WB. Computational Fluid Dynamics (CFD) modelling and application for sterilization of foods: A review. *Processes*. 2018;6(6). <https://doi.org/10.3390/pr6060062>
2. Borah R, Gupta S, Mishra L, Chhabra RP. Heating of liquid foods in cans: Effects of can geometry, orientation, and food rheology. *Journal of Food Process Engineering*. 2020;7(43). <https://doi.org/10.1111/jfpe.13420>
3. Jahanbakhshian N, Hamdami N. Numerical simulation of heat and mass transfer during heating and cooling parts of canned-green-olive pasteurization. *Journal of Food Process Engineering*. 2021;44(12). <https://doi.org/10.1111/jfpe.13909>
4. Ranjbar N. Numerical calculation F-value and lethality of non-newtonian food fluid during sterilization based on can geometry. *Iranian Food Science and Technology Research Journal*. 2019;14(6):113–125. <https://doi.org/10.22067/iftstrj.v0i0.71219>
5. Mohamed IO. Modeling and simulation of thermal sterilization of conduction heat canned foods using heat transfer coefficients boundary conditions. *International Journal of Food Processing and Technology*. 2016;3(2):48–53. <https://doi.org/10.15379/2408-9826.2016.03.02.03>
6. Lee MG, Yoon WB. Developing an effective method to determine the deviation of F value upon the location of a still can during convection heating using CFD and subzones. *Journal of Food Process Engineering*. 2014;37(5):493–505. <https://doi.org/10.1111/jfpe.12107>
7. Stolyanov A, Zhuk A, Kaychenov A, Kuranova L. Comparative analysis of temperature loggers used in the development of regimes for heat treatment of food production in autoclaves. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*. 2019;302. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/302/1/012031>
8. Montanari A, Barone C, Barone M, Santangelo A. Thermal treatments of canned foods. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*. 2018;410:5099–5100. <https://doi.org/10.1007/s00216-018-1158-8>
9. Montanari A, Barone C, Barone M, Santangelo A. Canned foods: Principles of thermal processing. In: Montanari A, Barone C, Barone M, Santangelo A, editors. *Thermal treatments of canned foods*. Cham: Springer; 2018. pp. 1–15. https://doi.org/10.1007/978-3-319-74132-1_1
10. Ziogou C, Kostoglou M, Georgiadis MC. Nonlinear model predictive control of food sterilization processes. *Computer Aided Chemical Engineering*. 2021;50:1155–1160. <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-88506-5.50178-9>
11. Zhuk A, Stolyanov A, Kaychenov A, Kuranova A, Grokhovsky V. Software for calculating the actual lethality of canned food heat treatment processes: Development and application. *E3S Web of Conferences*. 2021;273. <https://doi.org/10.1051/e3sconf/202127313002>
12. Krylova VB, Gustova TV, Bataeva DS, Gorbunov VN. On the question of using melting indicators for controlling sterilization temperature parameters. *Vsyo o Myase*. 2021;(2):52–54. (In Russ.). <https://doi.org/10.21323/2071-2499-2021-2-52-54>
13. Tucker G, Featherstone S. *Essentials of thermal processing*. Ames: Wiley-Blackwell; 2011. 264 p.
14. Skoglund T. On the common misuse of a constant z -value for calculations of thermal inactivation of microorganisms. *Journal of Food Engineering*. 2022;314. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2021.110766>
15. Jafarpour D, Hashemi SMB. Ohmic heating application in food processing: Recent achievements and perspectives. *Foods and Raw Materials*. 2022;10(2):216–226. <https://doi.org/10.21603/2308-4057-2022-2-531>

16. Riazantseva KA, Sherstneva NE. Traditional and innovative uses of ultraviolet treatment in the dairy industry. *Food Processing: Techniques and Technology*. 2022;52(2):390–406. (In Russ.). <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2022-2-2372>
17. Stier R. Swainson's handbook of technical and quality management for the food manufacturing sector. Woodhead Publishing; 2019. 606 p.
18. Friso D. A new mathematical model for food thermal process prediction. *Modelling and Simulation in Engineering*. 2013;2013. <https://doi.org/10.1155/2013/569473>
19. Serami MS, Ramezan Y, Khashehchi M. CFD simulation and experimental validation of in-container thermal processing in Fesenjan stew. *Food Science and Nutrition*. 2020;9(2):1079–1087. <https://doi.org/10.1002/fsn3.2083>
20. Erdoğan F, Uyar R, Palazoglu TK. Experimental comparison of natural convection and conduction heat transfer. *Journal of Food Process Engineering*. 2010;33(1):85–100. <https://doi.org/10.1111/j.1745-4530.2008.00309.x>
21. Rinaldi M, Malavasi M, Cordioli M, Barbanti D. Investigation of influence of container geometry and starch concentration on thermal treated in-package food models by means of Computational Fluid Dynamics (CFD). *Food and Bioprocess Processing*. 2018;108:1–11. <https://doi.org/10.1016/j.fbp.2017.12.003>
22. Zhu X, Zhou Q. Flow structures of turbulent Rayleigh–Bénard convection in annular cells with aspect ratio one and larger. *Acta Mechanica Sinica*. 2021;37(8):1291–1298. <https://doi.org/10.1007/s10409-021-01104-z>
23. Kondratenko VV, Kanevsky BL, Pokudina GP, Senkevich VI, Borchenkova LA. Slowest heating zone migration for heterophase model food system when sterilized. *Bulletin of KSAU*. 2021;176(11):188–197. (In Russ.). <https://doi.org/10.36718/1819-4036-2021-11-188-197>

<https://doi.org/10.21603/2074-9414-2023-4-2474>
<https://elibrary.ru/SNSVIZ>

Оригинальная статья
<https://fptt.ru>

Химико-термодинамические свойства чистых и многокомпонентных растворов сахарозы



В. И. Тужилкин¹, С. М. Петров^{2,*}, Н. М. Подгорнова³

¹ Российский биотехнологический университет^{ROR}, Москва, Россия

² Московский государственный университет технологий и управления имени К. Г. Разумовского (Первый казачий университет)^{ROR}, Москва, Россия

³ ООО НТ-Пром, Москва, Россия

Поступила в редакцию: 30.03.2023

Принята после рецензирования: 12.05.2023

Принята к публикации: 06.06.2023

*С. М. Петров: s.petrov@mgutn.ru,

<https://orcid.org/0000-0002-5859-7263>

В. И. Тужилкин: <https://orcid.org/0000-0003-3279-9649>

Н. М. Подгорнова: <https://orcid.org/0000-0002-7909-1763>

© В. И. Тужилкин, С. М. Петров, Н. М. Подгорнова, 2023



Аннотация.

Расширение и уточнение информативной базы данных в изучении химико-термодинамических свойств растворов сахарозы важно для обоснования технологических режимов процессов выпаривания и кристаллизации в сахарном производстве. Цель работы заключалась в получении уточненных экспериментальных оценок химико-термодинамических свойств чистых и технических многокомпонентных растворов сахарозы.

Использовали модернизированный эбулиометр с двумя циркуляционными трубками, посредством которого измеряли истинные температуры кипения сильновязких концентрированных и пересыщенных гомогенных растворов и гетерогенных кристаллизующихся систем. Изучили повышение температуры кипения чистых и многокомпонентных растворов сахарозы в диапазоне массовой доли сухих веществ 5–93 %, чистоты 60–100 %, давления 20–100 кПа.

Растворы сахарозы не подчиняются законам идеальных растворов Рауля, а правила Рамзая – Юнга и Дюринга носят приближенный характер. Однако установили, что понятия активности теории Льюиса корректно описывают термодинамические свойства этих растворов. Получили термодинамическое уравнение, которое описывает повышение температуры кипения чистых и технических многокомпонентных растворов сахарозы. Установили взаимосвязь констант Рамзая – Юнга и Дюринга с концентрацией и пересыщением растворов сахарозы, а также с изменением энтропии этих растворов. Погрешность определения констант составила 2–3 %. В работе показана возможность определения коэффициента пересыщения растворов путем измерения отношения температур кипения раствора и воды.

В результате исследования предложили практические способы контроля и управления процессом изобарической испарительной кристаллизации на основе измерения дифференциального и относительного эбулиометрических критериев. Результаты работы могут быть использованы при исследовании и оптимизации процесса массовой кристаллизации сахарозы из кипящих растворов.

Ключевые слова. Сахарсодержащие растворы, эбулиометрия, эбулиометрические критерии, константа Рамзая – Юнга, константа Дюринга, коэффициент пересыщения

Для цитирования: Тужилкин В. И., Петров С. М., Подгорнова Н. М. Химико-термодинамические свойства чистых и многокомпонентных растворов сахарозы // Техника и технология пищевых производств. 2023. Т. 53. № 4. С. 742–753. <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2023-4-2474>

Chemical and Thermodynamic Properties of Pure and Multicomponent Sucrose Solutions



Vyacheslav I. Tuzhilkin¹, Sergey M. Petrov^{2,*},
Nadezda M. Podgornova³

¹ Russian Biotechnological University^{ROR}, Moscow, Russia

² K.G. Razumovsky Moscow State University of Technologies and Management
(the First Cossack University)^{ROR}, Moscow, Russia

³ LLC NT-Prom, Moscow, Russia

Received: 30.03.2023
Revised: 12.05.2023
Accepted: 06.06.2023

*Sergey M. Petrov: s.petrov@mgutm.ru,
<https://orcid.org/0000-0002-5859-7263>
Vyacheslav I. Tuzhilkin: <https://orcid.org/0000-0003-3279-9649>
Nadezda M. Podgornova: <https://orcid.org/0000-0002-7909-1763>

© V.I. Tuzhilkin, S.M. Petrov, N.M. Podgornova, 2023



Abstract.

To select an optimal mode of evaporation and crystallization, sugar producers need comprehensive databases of chemical and thermodynamic properties of sucrose solutions. This article introduces refined experimental estimates of the chemical and thermodynamic properties of pure and technical multicomponent sucrose solutions.

The study involved a modernized ebulliometer with two circulation tubes that measured the true boiling points of concentrated and supersaturated homogeneous solutions, as well as heterogeneous crystallizing systems. The boiling points of pure and multicomponent sucrose solutions were observed for the following variables: 5–93% dry solids, 60–100% purity, 20–100 kPa.

In this study, the sucrose solutions did not obey Raoult's laws for ideal mixtures, while the Ramsay-Young's equation and Dühring's rule were approximate. The thermodynamic properties of these solutions fit in the Lewis theory of activity. The study yielded a new thermodynamic equation for the boiling point in pure and technical multicomponent sucrose solutions. The authors revealed the correlation between the constants of Ramsay-Young and Dühring and the concentration and supersaturation of sucrose solutions, as well as the change in the entropy of these solutions. The error of estimate was 2–3%. The supersaturation coefficient was measured by the ratio of the boiling points of the solution and water.

The authors used differential and relative ebulliometric criteria to develop some practical methods for monitoring and controlling the process of isobaric evaporative crystallization. The new method can improve the commercial mass sucrose crystallization from boiling solutions.

Keywords. Sugar-containing solutions, ebulliometry, ebulliometric criteria, constant of Ramsay-Young, constant of Dühring, supersaturation coefficient

For citation: Tuzhilkin VI, Petrov SM, Podgornova NM. Chemical and Thermodynamic Properties of Pure and Multicomponent Sucrose Solutions. Food Processing: Techniques and Technology. 2023;53(4):742–753. (In Russ.). <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2023-4-2474>

Введение

В научной литературе имеются сведения, которые касаются химико-термодинамических свойств чистых и технических многокомпонентных растворов сахарозы. Однако их недостаточно. Поэтому изучение данного вопроса актуально для понимания и обоснования технологических процессов пищевых производств [1].

Общие представления о проблемах, изучаемых в разделах химической термодинамики, представлены в работе S. Shimizu и N. Matubayasi [2]. Исследования в области термодинамики растворов сахарозы не раскрывают полную картину происходящих явлений.

Значение термодинамических функций растворов сахаров характеризует их структуру, ее изменения и вероятность фазовых превращений, что важно при оптимизации процессов производства глюкозы и фруктозы [3, 4]. Авторы исследований [3, 4] определили термодинамические функции и их изменения, в зависимости от концентрации и температуры вышеуказанных растворов, обосновали устойчивость этих веществ и высказали предположения об их структуре и кристаллизационных свойствах.

Д. Г. Черкасов и др. пришли к выводу, что термодинамический подход не требует знания молекулярных механизмов рассматриваемых процессов (они часто

неизвестны), а энтропия является одной из наиболее удобных характеристик хаотичности частиц вещества и вероятности изучения его макроскопического состояния [5]. В работах [6, 7] публикуется ряд сведений о термодинамических коэффициентах сахарных растворов и рассматриваются парциальные свойства компонентов раствора.

Разными учеными изучались термодинамические свойства растворов сахарозы и их осмотическое давление, теплофизические свойства водных растворов сахарозы, а также повышение температуры кипения чистых и производственных растворов сахарозы [3, 6, 8–15].

Представленный анализ состояния химико-термодинамических свойств растворов сахарозы не раскрывает основных закономерностей, характерных для данного научного направления [9]. Например, закон Рауля, термодинамическая активность воды и растворенного вещества Льюиса, практически отсутствуют сведения о т. н. правилах Рамзая – Юнга и Дюринга.

Термодинамический подход к описанию свойств веществ и процессов, протекающих в таких растворах, является важной составляющей научного и практического исследования [16, 17]. Изучение вопросов, касающихся термодинамических свойств растворов неэлектролитов, к которым относятся растворы углеводов, необходимо для решения научно-технологических и прикладных задач [18–20].

Целью исследования являлось получение уточненных экспериментальных оценок химико-термодинамических свойств чистых и технических многокомпонентных растворов сахарозы. Расширение и уточнение информативной базы данных в изучении указанных свойств растворов является актуальным и важным для обоснования технологических режимов процессов выпаривания и кристаллизации в сахарном производстве.

Объекты и методы исследования

Температура – это один из важнейших параметров системы, определяющий термодинамические характеристики протекания процесса. Она характеризует изменение химических превращений и физических процессов в целом. Температура является параметром, который положен в основу распространенного в технологии сахара эбулиометрического контроля процесса изобарической испарительной и политермической кристаллизации сахарозы. Поэтому знания, которые касаются этого показателя, важны для теории и практики сахарного производства [21]. Для определения температуры используются устройства, которые не позволяют определить точные значения температур кипения высококонцентрированных растворов, в т. ч. растворов сахарозы [12, 18, 22, 23].

Объектами исследования являлись сильновязкие концентрированные и пересыщенные гомогенные растворы и гетерогенные кристаллизующиеся системы.

На рисунке 1 изображена эбулиометрическая установка, которая является модификацией конструкции эбулиометра Свентославского [24, 25]. Отличием модернизированного эбулиометра является возможность измерения истинных температур кипения сильновязких концентрированных и пересыщенных гомогенных растворов и гетерогенных кристаллизующихся систем.

Устройство состоит из двух обогреваемых каналов 1, электронагревателей 2, патрубка для отбора проб раствора 3, циркуляционных трубок 4, трубки для отвода конденсата в раствор 5, счетчика капель 6, термодатчиков 7 и 11, крана отбора конденсата 8, холодильника 9, термометрического сосуда 10, патрубка для подачи раствора и твердой фазы 12, буферной ёмкости 13, патрубков для установки электрофизических датчиков 14 и 15, смотровой части с параллельными стенками 16, опускающего канала циркуляционного контура 17. Стрелками показано направление циркуляции раствора или суспензии.

Эбулиометрическая установка позволяет моделировать в изотермо-изогидрических условиях сгущение сиропов и уваривание утфелей в циркуляционных вакуум-аппаратах. Для этого изучали влияние содержания кристаллов сахара на повышение темпе-

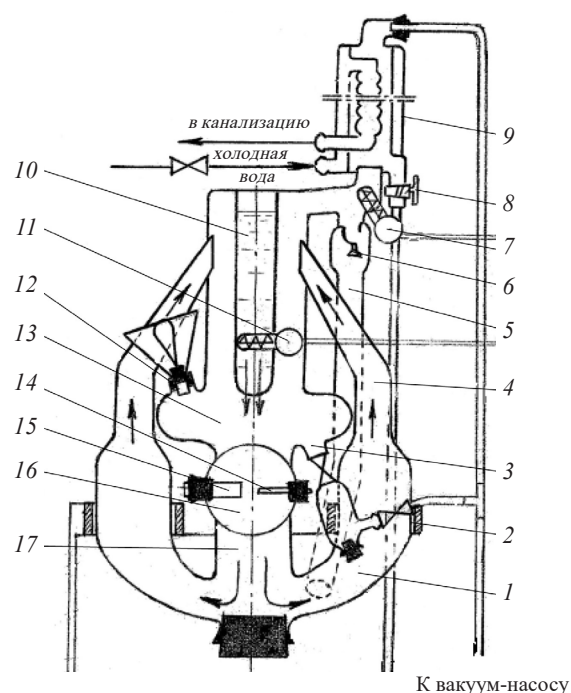


Рисунок 1. Эбулиометр для определения температуры кипения растворов сахарозы

Figure 1. Ebulliometry of boiling point of sucrose solutions

ратуры кипения ΔT насыщенных чистых и производственных растворов сахарозы. Раствор сахарозы сгущали в эбулиометре до состояния насыщения.

Также мы изучили растворимость сахарозы в насыщенных растворах для температурного диапазона 60–90 °С при интенсивном кипении, т. к. имеющиеся в литературе таблицы растворимости получены в статических условиях. Раствор сахарозы сгущался до состояния насыщения при 90 °С, измерялась температура насыщенного раствора T_p^n и рефрактометрически определялось содержание сахарозы. Затем дискретно понижалась температура раствора с шагом 2–3 °С до 80 °С, для чего увеличивалось разрежение в эбулиометре и определялась растворимость при каждом новом значении температуры.

Результаты растворимости сахарозы в условиях динамического кипения в циркуляционном контуре эбулиометра постоянно сравнивались с известными для статических условий данными. Это позволяло сделать вывод об отсутствии перегрева раствора в разработанной конструкции эбулиометра и возможности его применения для исследования ΔT насыщенных растворов сахарозы.

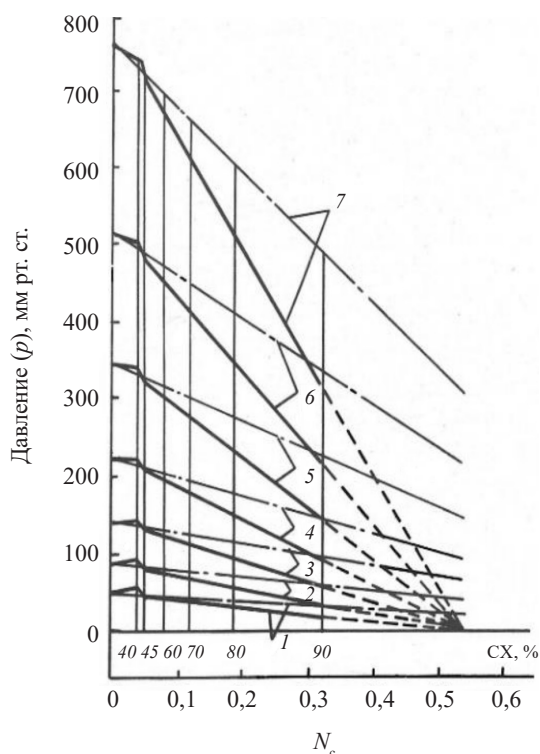


Рисунок 2. Зависимость давления паров над чистыми растворами сахарозы от концентрации (CX и N_c) при различных температурах: 1 – 40 °С; 2 – 50 °С; 3 – 60 °С; 4 – 70 °С; 5 – 80 °С; 6 – 90 °С; 7 – 100 °С

Figure 2. Effect of concentration (CX and N_c) on vapor pressure at different temperatures: 1 – 40 °С; 2 – 50 °С; 3 – 60 °С; 4 – 70 °С; 5 – 80 °С; 6 – 90 °С; 7 – 100 °С

С помощью представленного эбулиометра мы получили экспериментальные данные, на основе которых составили таблицы для повышения температуры кипения (ΔT) в диапазоне массовой доли сухих веществ СВ = 5–93 %, чистоты $Ch_p = 60$ –100 % и давления $p = 20$ –100 кПа.

Эти данные использовали для расчета давления пара над растворами и теоретического обоснования ряда физико-химических законов и правил применительно к чистым и техническим многокомпонентным растворам сахарозы.

Результаты и их обсуждение

По экспериментальным данным эбулиометрического исследования мы построили графические зависимости давления паров над чистыми растворами сахарозы от концентрации при различных температурах для идеальных (штрихпунктирные линии) и реальных (сплошные линии) водных растворов сахарозы (рис. 2).

Зависимость давления пара над идеальным раствором (p_p) от концентрации нелетучего неэлектролита определяется законом Рауля

$$\frac{p_p}{p_b} = N_b = 1 - N_c \quad (1)$$

где p_b – давление насыщенного пара над растворителем (водой); N_b – мольная доля растворителя (воды); N_c – мольная доля растворенного вещества (сахарозы).

Согласно Льюису реальные водные растворы неэлектролитов характеризуются величиной термодинамической активности воды (a_b)

$$\frac{p_p^p}{p_b} = a_b \quad (2)$$

где p_p^p – давление пара над раствором.

Для практических расчетов и анализа получаемых экспериментальных данных используются не активности, а коэффициенты активностей, которые характеризуют величину отклонения свойств реального раствора от идеального. Коэффициент активности воды (γ) определяется отношением

$$\gamma = \frac{a_b}{N_b} \quad (3)$$

На рисунке 2 сплошными линиями изображено давление паров растворителя над реальными водными растворами сахарозы, а штрихпунктирными линиями – для идеальных растворов. До концентрации $N_c = 0,0369$ (CX = 40 %) водные растворы сахарозы имеют положительные отклонения от закона Рауля, а при $N_c > 0,0369$ – отрицательные. Изотермы изменений p и N_c для реальных растворов изображены прямыми линиями. Как выглядит эта зависимость для N_c выше 0,2741 (СВ = 87,87 %) неизвестно. При продолжении изотерм все они

пересекаются в точке $N_c = 0,572$ (СВ = 96,2 %), в которой на 1 моль воды приходится 1,34 моля сахарозы.

Эмпирический закон Бабо применительно к реальным растворам записывается в виде

$$\frac{p_p}{p_b} = \text{const} \quad (4)$$

Данный эмпирический закон справедлив для раствора определенной концентрации, когда давление паров над раствором и насыщенным паров чистой воды измерено при одной и той же температуре кипения. Как видно из уравнения (4), константа закона Бабо является величиной термодинамической активности воды в уравнении (2).

На основании развернутого анализа полученных экспериментальных данных предложено термодинамически обоснованное уравнение (5) для расчета повышения температуры кипения растворов сахарозы (ΔT), которое с высокой точностью описывает опытные данные

$$\Delta T = -RT_b \frac{\ln a_b}{(\Delta S_b + \ln a_b)} \quad (5)$$

где T_b – температура кипения чистой воды, К; a_b – активность воды в растворе; ΔS_b – изменение энтропии чистой воды при переходе 1 моля из жидкого в парообразное состояние, Дж/(моль·град); R – универсальная газовая постоянная, Дж/(моль·град).

Математическая обработка этих данных позволила охарактеризовать активность воды (a_b), в зависимости от температуры кипения чистой воды (T_b) и мольной доли сахарозы (N_c), уравнением (6)

$$\ln a_b = -\ln N_c - \left(\frac{3767,2}{T_b} - 4,27 \right) \times N_c^2 + 2,602 N_c^3 \quad (6)$$

Активность сахарозы (a_c) с учетом температуры воды (T_b) и мольных долей сахарозы (N_c) и воды (N_b) можно определить по уравнению (7), используя теорию Дебая – Хюккеля [26]

$$\ln a_c = -\ln N_c + (9,52 - 7534,45 / N_b) \times N_c + (3767,22 / T_b - 0,367) N_c^2 - 2,602 N_c^3 \quad (7)$$

Уравнения (6) и (7) играют важную роль в теории строения растворов сахарозы и обосновании возможности применения эбулиометрического метода косвенного измерения движущей силы процесса кристаллизации сахара – коэффициента пересыщения.

Применение в химической термодинамике правил Рамзая – Юнга и Дюринга к чистым и техническим многокомпонентным растворам сахарозы представляет теоретический и практический интерес. Так как указанные правила получены для жидкостей, то мы исходили из представления о том, что раствор определенной концентрации можно рассматривать как индивидуальную жидкость, которая имеет при данном давлении и концентрации свою определенную температуру кипения.

С одной стороны, правило Рамзая – Юнга констатирует, что для раствора постоянной концентрации и давления пара над раствором и водой отношение температуры кипения раствора к температуре кипения чистой воды постоянно. Оно записывается в виде

$$T_p / T_b = \text{const} = K_1, \quad CX = \text{const} \quad (8)$$

С другой стороны, при постоянной концентрации, согласно правилу Дюринга, отношение разности температур кипения раствора к разности температур кипения чистой воды, измеренных при двух различных значениях давления пара над раствором и водой, представляет собой постоянную величину

$$\frac{T_p - T_p'}{T_b - T_b'} = \text{const} = K_2, \quad CX = \text{const} \quad (9)$$

Первоначально это правило применяли для чистых жидкостей и испытывали на пятидесяти веществах в широком диапазоне давлений. Позднее проверяли его применимость на водных растворах неорганических веществ [25]. При низких давлениях опытные данные укладываются в прямые линии, подтверждая возможность применения правила Дюринга для растворов [13, 26].

Мы рассмотрели справедливость применения обоих правил к водным растворам сахарозы. Результаты проверки правила Рамзая – Юнга $T_p/T_b = K_1$ для чистых концентрированных растворов сахарозы приведены в таблице 1.

Таблица 1. Результаты проверки применимости правила Рамзая – Юнга для чистых концентрированных растворов сахарозы

Table 1. Ramsay-Young rule for pure concentrated sucrose solutions

Сухие вещества, %	60	70	80	90
Давление (p), кПа				
70	1,0072 ± 0,0109	1,0131 ± 0,0109	1,0247 ± 0,0111	1,0599 ± 0,0114
47	1,0071 ± 0,0113	1,0130 ± 0,0113	1,0244 ± 0,0115	1,0597 ± 0,0119
31	1,0070 ± 0,0117	1,0127 ± 0,0117	1,0240 ± 0,0119	1,0595 ± 0,0123
20	1,0068 ± 0,0125	1,0125 ± 0,0126	1,0237 ± 0,0127	1,0593 ± 0,0131

Из таблицы 1 видно, что величина K_1 уменьшается при снижении давления ($CX = \text{const}$), а при повышении массовой доли сахарозы CX ($p = \text{const}$) имеет выраженную тенденцию к росту.

Отмеченные выше изменения для константы K_1 характерны и для константы K_2 , которую определили по правилу Дюринга $(T_p - T_p') / (T_b - T_b') = T_p / T_b = K_2$ (табл. 2). Однако закономерность ее изменения для исследуемого диапазона давлений проявляется в меньшей степени, чем для K_1 . Это связано с тем, что измеряемые разности температур, используемые для константы K_2 , выражаются небольшими величинами по сравнению с абсолютными значениями температур, которые применяют для расчета константы K_1 по правилу Рамзая – Юнга. Поэтому даже незначительная погрешность в их определении приводит к вариациям K_2 . Следовательно, необходимо использовать точные методики и аппаратуру для измерения этой константы. При увеличении массовой доли сахарозы CX ($p = \text{const}$) значение K_2 возрастает.

С целью выявления закономерностей изменения указанных констант для производственных растворов мы провели исследования с растворами различной чистоты. Из таблицы 3 следует ($\varphi = 90$ и 80%), что зависимости, отмеченные для чистых растворов сахарозы, сохраняются и для производственных растворов. Можно отметить, что при снижении чистоты этих растворов отклонение от постоянства проявляется более заметно.

Попытки эмпирически установить взаимосвязь между углом наклона линий Дюринга и концентрацией для различных водных растворов приведены в работах [5, 27–29]. Однако подобный подход к изучаемому явлению не раскрывает физическую сущность констант K_1 и K_2 .

В данной работе предложено теоретическое обоснование изменения констант K_1 и K_2 от переменных параметров. Для анализа изменения констант K_1 и K_2 применяли уравнение Клапейрона – Клаузиуса для жидкостей. Применительно к чистым водным растворам сахарозы это уравнение запишется в виде

$$\ln \frac{p_b}{p_p} = \frac{\Delta H_p}{R} \left(\frac{1}{T_b} - \frac{1}{T_p} \right) \quad (10)$$

В соответствии с законом Рауля [4]

$$\ln \frac{p_b}{p_p} = -\ln N_b \quad (11)$$

После преобразования растворов получается следующее уравнение:

$$\frac{T_p}{T_b} = 1 - \frac{R}{\Delta H_p} \times \ln N_b \quad (12)$$

Однако $\Delta H_p / T_p$ – это ΔS_p , т. е. изменение энтропии при фазовом переходе из раствора одного моля воды

Таблица 2. Результаты проверки применимости правила Дюринга для чистых концентрированных растворов сахарозы

Table 2. Dühring's rule for pure concentrated sucrose solutions

Сухие вещества, % Давление (p), кПа	60	70	80	90
70	1,012 ± 0,011	1,022 ± 0,011	1,036 ± 0,011	1,067 ± 0,012
47	1,012 ± 0,011	1,020 ± 0,011	1,036 ± 0,012	1,066 ± 0,012
31	1,011 ± 0,012	1,020 ± 0,012	1,035 ± 0,012	1,065 ± 0,012
20	1,011 ± 0,013	1,019 ± 0,013	1,035 ± 0,013	1,065 ± 0,013

Таблица 3. Закономерности изменения K_2 для технических многокомпонентных растворов сахарозы

Table 3. Patterns for Constant K_2 for technical multicomponent sucrose solutions

Сухие вещества, % Давление (p), кПа	60	70	80	90
$\varphi = 90\%$				
70	1,0083 ± 0,0109	1,0145 ± 0,0110	1,0268 ± 0,0111	1,0637 ± 0,0115
47	1,0081 ± 0,0113	1,0142 ± 0,0114	1,0263 ± 0,0115	1,0631 ± 0,0119
31	1,0079 ± 0,0117	1,0139 ± 0,0118	1,0258 ± 0,0119	1,0625 ± 0,0123
20	1,0077 ± 0,0125	1,0135 ± 0,0126	1,0252 ± 0,0127	1,0619 ± 0,0132
$\varphi = 80\%$				
70	1,0094 ± 0,0109	1,0160 ± 0,0110	1,0288 ± 0,0111	1,0675 ± 0,0115
47	1,0091 ± 0,0113	1,0156 ± 0,0114	1,0282 ± 0,0115	1,0666 ± 0,0119
31	1,0088 ± 0,0117	1,0151 ± 0,0118	1,0275 ± 0,0119	1,0655 ± 0,0124
20	1,0085 ± 0,0125	1,0146 ± 0,0126	1,0267 ± 0,0127	1,0644 ± 0,0132

в пар при температуре кипения этого раствора. С учетом сказанного уравнение (12) запишется в виде

$$\frac{T_p}{T_b} = 1 - \frac{R}{\Delta S_p} \times \ln N_b \quad (13)$$

Из сопоставлений уравнений (8) и (13) получается, что

$$K_1 = 1 - \frac{R}{\Delta S_p} \times \ln N_b \quad (14)$$

Из уравнения (13) (при $p = \text{const}$ и $CX = \text{const}$) определяется T_p , которое выражается в виде

$$T_p = T_b - \frac{R \times T_b}{\Delta S_p} \times \ln N_b \quad (15)$$

Для давления $p' = \text{const}$ и той же концентрации уравнение (15) запишется в виде

$$T_p' = T_b' - \frac{R \times T_b'}{\Delta S_p'} \times \ln N_b \quad (16)$$

После вычитания уравнения (16) из уравнения (15) и деления на $(T_b - T_b')$ получается следующее:

$$\frac{T_p - T_p'}{T_b - T_b'} = 1 - \frac{T_b - \frac{\Delta S_p}{\Delta S_p'} \times T_b'}{T_b - T_b'} \times \frac{R}{\Delta S_p} \times \ln N_b \quad (17)$$

Таким образом, левая часть уравнения представляет собой константу K_2 , которая равна

$$K_2 = 1 - \frac{T_b - \frac{\Delta S_p}{\Delta S_p'} \times T_b'}{T_b - T_b'} \times \frac{R}{\Delta S_p} \times \ln N_b \quad (18)$$

Уравнения (13) и (18) представляют физическую сущность правил Рамзая – Юнга и Дюринга. Они показывают сложную зависимость этих констант от концентрации, температур раствора и воды, изменений энтропии в системе.

Известно соотношение вида [30]

$$\frac{T_p - T_p'}{T_b - T_b'} = \frac{T_p}{T_b} \quad (19)$$

Покажем условие, при котором это утверждение справедливо. Пусть в уравнении (18)

$$\frac{\Delta S_p}{\Delta S_p'} = 1 \quad (20)$$

тогда уравнение (18) запишется в виде:

$$\begin{aligned} \frac{T_p - T_p'}{T_b - T_b'} &= 1 - \frac{T_b - T_b'}{T_b - T_b'} \times \frac{R}{\Delta S_p} \times \ln N_b = \\ &= 1 - \frac{R}{\Delta S_p} \times \ln N_b = \frac{T_p}{T_b} \end{aligned} \quad (21)$$

Следовательно, равенство справедливо при $\Delta S_p = \Delta S_p'$ и при $N_b = \text{const}$, что возможно лишь при условии одинаковых давлений, т. е. при $p = p'$. Во всех других случаях

$$\frac{T_p - T_p'}{T_b - T_b'} \neq \frac{T_p}{T_b} \quad (22)$$

Таким образом, установили взаимосвязь констант Рамзая – Юнга и Дюринга с концентрацией раствора и изменением энтропии при фазовом переходе воды из раствора. Из анализа этих уравнений следует, что для данной концентрации постоянство отношений справедливо лишь в том случае, если ΔS_p остается неизменным. Поскольку значения этих величин изменяются при колебаниях в системе давления и концентрации, то постоянство K_1 и K_2 в этих уравнениях носит приближенный характер. Представленное выше термодинамическое обоснование объясняет закономерности изменения экспериментальных данных в таблицах 1–3. Погрешность определения констант K_1 и K_2 составила 2–3 %.

Закономерности изменения рассматриваемых выше правил применительно к насыщенным и пересыщенным чистым и техническим многокомпонентным растворам имеют практическую значимость при разработке эбулиометрических способов измерения степени пересыщения кристаллизующихся сахаросодержащих растворов. В работе измерялись температуры кипения таких растворов и температуры кипения чистой воды при одном и том же давлении над раствором и чистой водой.

На рисунке 3 представлена зависимость T_p от T_b насыщенных производственных растворов разной чистоты, а именно $\chi = 100, 90$ и 80% . Из графика следует, что линии постоянного насыщения имеют отклонения от прямолинейной зависимости (обозначено пунктиром).

Это отклонение характерно для пересыщенных растворов и увеличивается с ростом пересыщения. Это

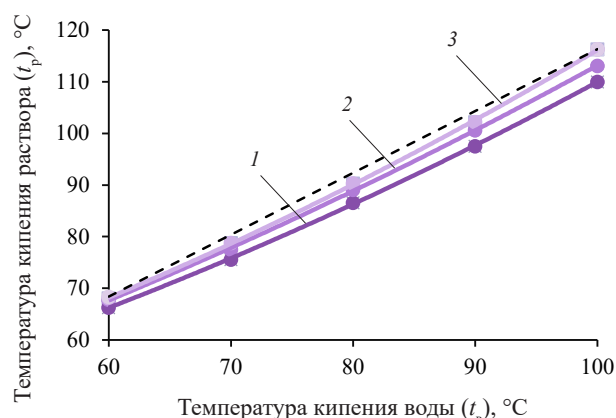


Рисунок 3. Зависимость между температурами кипения раствора (t_p) и воды (t_b) при насыщении $\Pi = 1,0$:

1 – $\chi = 100\%$; 2 – $\chi = 90\%$; 3 – $\chi = 80\%$

Figure 3. Correlations between the boiling temperatures of solution (t_p) and water (t_b) at 1.0 saturation: 1 – 100% purity; 2 – 90% purity; 3 – 80% purity

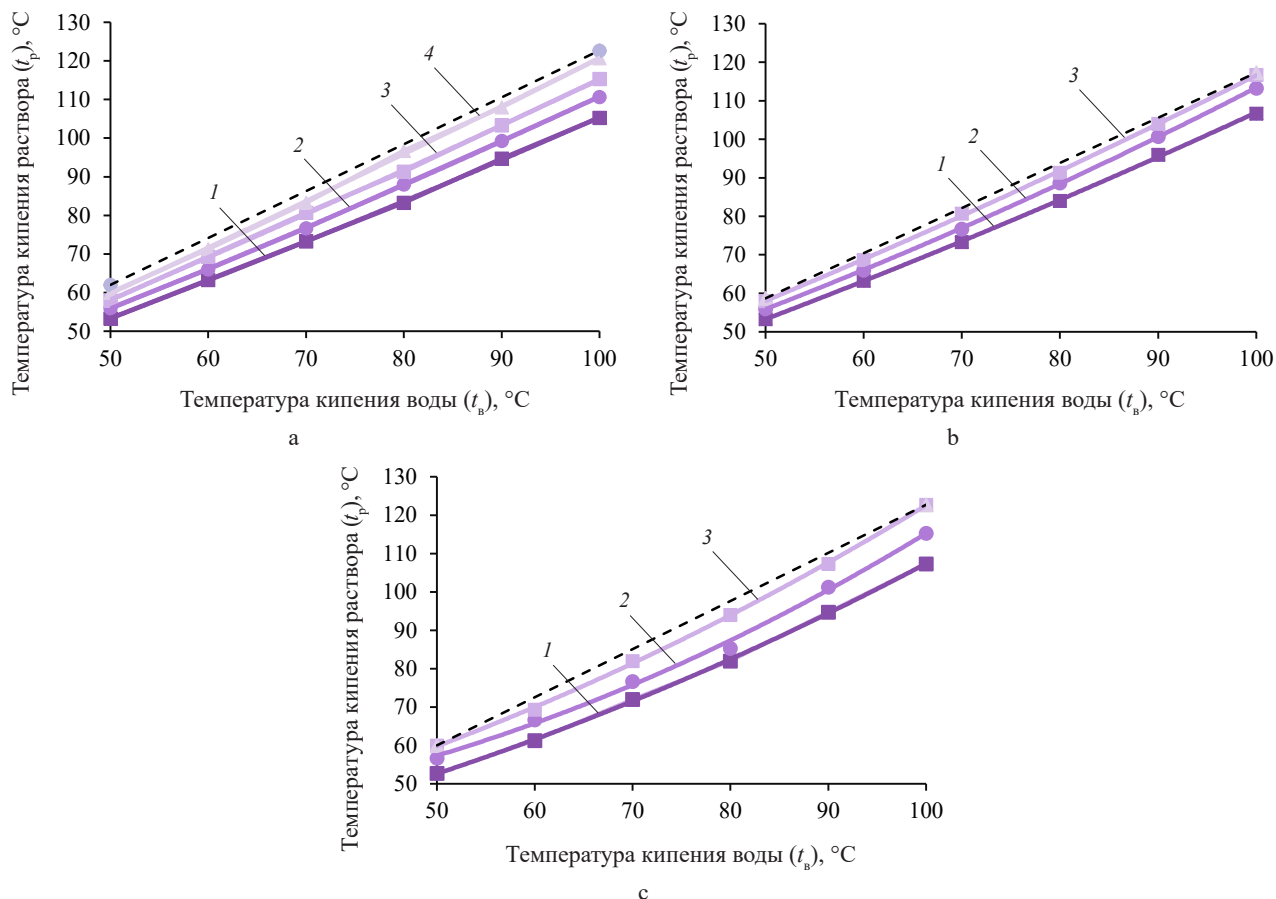


Рисунок 4. Зависимость температуры кипения раствора t_p от температуры кипения чистой воды t_b для различных значений коэффициента пересыщения: а) $Ch = 100\%$; б) $Ch = 90\%$; в) $Ch = 80\%$; 1 – $\Pi = 0,6$; 2 – $\Pi = 1,0$; 3 – $\Pi = 1,4$; 4 – $\Pi = 1,8$

Figure 4. Correlation between boiling temperature of the solution t_p on the boiling point of pure water t_b for different supersaturation values: а) 100% purity; б) 90% purity; в) 80% purity; 1 – 0.6 saturation; 2 – 1.0 saturation; 3 – 1.4 saturation; 4 – 1.8 saturation

не совпадает с представлениями Холвена, который в основу расчета пересыщения положил правило Дюринга при условии линейности зависимостей постоянного пересыщения [31]. Расчет показывает, что обнаруженное отклонение от линейности может дать погрешность 10–15 % при измерении пересыщения в пределах рабочих температур кристаллизации сахарозы.

Другие авторы допускают, что при применении уравнения Дюринга для интерполяции и экстраполяции экспериментальных данных между T_p и T_b применительно к чистым и производственным растворам сахарозы существуют линейные зависимости [14, 32, 33]. Однако в этом случае ошибки не исключаются.

Из рисунка 4 следует, что представленные зависимости t_p от t_b для различных значений чистоты (Ch) и пересыщения (Π) имеют изогнутый вид, который следует из теоретической интерпретации правила Рамзая – Юнга.

Из рисунка 4б и в видно, что зависимости температуры кипения раствора от температуры кипения чистой воды при одинаковых величинах коэффи-

циента пересыщения для растворов с $Ch = 90$ и 80% , как и для чистых растворов сахарозы, характеризуются изогнутостью линий постоянного пересыщения. Эти зависимости имеют еще более выраженный криволинейный характер. Кроме этого, с уменьшением чистоты раствора угол наклона линий постоянного пересыщения возрастает, а сами линии смещаются выше.

Математическая обработка результатов эксперимента позволяет описать их уравнением (23)

$$\Pi = -60,6 + 60,95 \frac{T_p}{T_b} + \left(0,375 - 0,376 \frac{T_p}{T_b} \right) \times (T_b - 273,16) \quad (23)$$

Из уравнения (23) следует практическая возможность определения коэффициента пересыщения путем измерения отношения температур кипения T_p/T_b .

Достоинством предложенного способа является то, что его применение обеспечивает измерение

Таблица 4. Результаты проверки способа измерения коэффициента пересыщения по относительному эбулиометрическому критерию

Table 4. Measuring supersaturation coefficient by relative ebulliometric criterion

Коэффициент пересыщения (IT)	Отношение повышения температур кипения ($\Delta T/\Delta T_n$)					
	0,796 ± 0,016	0,798 ± 0,016	0,813 ± 0,016	0,790 ± 0,016	0,809 ± 0,016	0,804 ± 0,016
0,8	0,796 ± 0,016	0,798 ± 0,016	0,813 ± 0,016	0,790 ± 0,016	0,809 ± 0,016	0,804 ± 0,016
1,0	1,000 ± 0,025	1,000 ± 0,025	1,000 ± 0,025	1,000 ± 0,025	1,000 ± 0,025	1,000 ± 0,025
1,2	1,202 ± 0,036	1,205 ± 0,036	–	1,202 ± 0,036	1,195 ± 0,036	1,196 ± 0,036
1,4	1,405 ± 0,049	1,415 ± 0,050	–	1,409 ± 0,049	1,391 ± 0,049	1,402 ± 0,049

коэффициента пересыщения в пределах $IT = 0,5–1,5$ для диапазона $\varphi = 60–100\%$, давления (разрежения) $p_d = 20–100$ кПа и кристаллосодержания $K_p = 0–50\%$ при колебаниях состава несхаров по зонам свекло-сеяния. В данном случае вместо семейства линий, расслаивающихся по φ , p_d и K_p , получается одна градуировочная линия. Это упрощает контроль пересыщения при кристаллизации сахарозы.

По способу контроля коэффициента пересыщения, основанного на измерении дифференциального эбулиометрического критерия, путем изменения давления определяются соответствующие ему приращение температуры кипения чистой воды и повышение температуры кипения кристаллизующего раствора. Контроль коэффициента пересыщения осуществляется по разности текущего и предыдущего значений повышения температуры кипения раствора; приращение температуры кипения чистой воды поддерживается постоянным. В этом случае вместо семейства линий получается одна градуировочная кривая, что повышает точность контроля коэффициента пересыщения [24].

Результаты экспериментальных и теоретических исследований применимости закона Рауля, закономерностей изменения констант Рамзая – Юнга и Дюринга на основе развернутых измерений температуры кипения чистых и многокомпонентных технических растворов сахарозы стали основой для разработки L. Rózsa и др. новых способов контроля коэффициента пересыщения [34, 35].

По предложенному нами способу контроля коэффициента пересыщения, основанного на измерении относительного эбулиометрического критерия ($\Delta T/\Delta T_n$), определяется приращение температуры кипения увариваемого раствора в состоянии насыщения, соответствующего давлению, при котором протекает процесс кристаллизации. Коэффициент пересыщения определяется по величине отношения приращения температуры кипения исходного кристаллизующего раствора при данных давлении и концентрации к приращению температуры кипения этого раствора в состоянии насыщения [36, 37]. Результаты проверки этого способа представлены в таблице 4.

Научным обоснованием вышеприведенного утверждения служит теория физико-химического подобия.

Оно заключается в том, что зависимость свойства «у» от независимого параметра «t» подобна для сравниваемых веществ если кривые, представленные в декартовой системе координат $t - y$, геометрически родственны (подобны). Дальнейшее развитие теории подобия зависимостей физико-химических свойств вещества от независимых параметров получила в теории (принципе) соответственных состояний, которая изложена в [38].

Выводы

На основании экспериментального исследования применимости закона Бабо, Рауля, правил Рамзая – Юнга и Дюринга получили следующие результаты: – в пределах исследованных давлений и концентраций законы строго не выдерживаются как для чистых, так и для производственных сахаросодержащих растворов; – раскрыт физический смысл констант Рамзая – Юнга и Дюринга и дано термодинамическое обоснование зависимости этих констант от концентрации, давления и изменения энтропии испарения; – эбулиометрический метод может быть использован для измерения коэффициента пересыщения в пределах рабочих температур кристаллизации сахарозы; – полученную нелинейную зависимость T_p от T_n необходимо учитывать в расчетах, связанных с определением повышения температуры кипения растворов и коэффициентов пересыщения. В противном случае это может привести к погрешностям результатов до 10–15 %; – использование правил Рамзая – Юнга и Дюринга для аппроксимации экспериментальных данных дает ошибочные результаты из-за того, что константы в этих уравнениях являются переменными коэффициентами.

Критерии авторства

Авторы в равной степени участвовали в подготовке и написании статьи.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Contribution

All the authors contributed equally to the study and bear equal responsibility for information published in this article.

Conflict of interest

The authors declare that there is no conflict of interests regarding the publication of this article.

Обозначения

T_b – температура кипения чистой воды, К;
 a_b – активность воды в растворе;
 ΔS_b – изменение энтропии чистой воды при переходе 1 моля из жидкого в парообразное состояние, Дж/(моль·град);
 R – универсальная газовая постоянная, Дж/(моль·град);
 p_p – давление паров растворителя над раствором при температуре T_b , кПа;
 p_b – давление паров над чистым растворителем при той же температуре, кПа;

N_b и N_c – концентрации в виде мольной доли воды и растворенного вещества (сахарозы);
 K_p – кристаллосодержание в суспензии, %;
 CB – массовая доля сухих веществ, %;
 CX – массовая доля сахарозы, %;
 Q_p – чистота производственного раствора сахарозы, %;
 T_p и T_b – температуры кипения раствора и воды при $p = \text{const}$, К;
 T'_p и T'_b – температура кипения раствора и воды при $p' = \text{const}$, К;
 ΔT – повышение температуры кипения раствора сахарозы, К;
 t_p и t_b – температуры кипения раствора и воды при $p = \text{const}$, °С;
 K_1 – константа Рамзая – Юнга;
 K_2 – константа Дюринга;
 ΔH_p – изменение энтальпии раствора, Дж;
 ΔS_p – изменение энтропии при фазовом переходе из раствора 1 моля воды в пар при температуре кипения этого раствора, Дж/К.

References/Список литературы

1. Borji A, Borji F-E, Jourani A. Sucrose crystallization: Modeling of thermodynamic equilibrium in impure aqueous solutions. *International Journal of Innovation Engineering and Science Research*. 2019;3(3):7–16.
2. Shimizu S, Matubayasi N. Sorption: A statistical thermodynamic fluctuation theory. *Langmuir*. 2021;37(24):7380–7391. <https://doi.org/10.1021/acs.langmuir.1c00742>
3. Masimov EA, Pashaev BG, Hasanov GS. Structure of aqueous solutions of sucrose, derived from viscosimetry data and IR spectroscopy. *Russian Journal of Physical Chemistry A*. 2017;91(4):644–647. (In Russ.). <https://doi.org/10.7868/S0044453717040173>
4. Mikhailik VA, Dmitrenko NV, Snezhkin YuF. Investigation of the influence of hydration on the heat of evaporation of water from sucrose solutions. *Journal of Engineering Physics and Thermophysics*. 2019;92(4):945–952. (In Russ.). [Михайлик В. А., Дмитренко Н. В., Снежкин Ю. Ф. Исследование влияния гидратации на теплоту испарения воды из растворов сахарозы // Инженерно-физический журнал. 2019. Т. 92. № 4. С. 945–952.]. <https://www.elibrary.ru/LBMYLH>
5. Cherkasov DG, Danilina VV, Il'in KK. Phase equilibria, critical phenomena, and extractive crystallization of the salt in the sodium chloride – water – diisopropylamine ternary system. *Russian Journal of Inorganic Chemistry*. 2021;66(6):883–890. <https://doi.org/10.1134/S0036023621060073>
6. Merino A, Acebes LF, Alves R, de Prada C. Real Time Optimization for steam management in an evaporation section. *Control Engineering Practice*. 2018;79:91–104. <https://doi.org/10.1016/j.conengprac.2018.07.010>
7. Chantasiriwan S. Modification of conventional sugar juice evaporation process for increasing energy efficiency and decreasing sucrose inversion loss. *Processes*. 2020;8(7). <https://doi.org/10.3390/pr8070765>
8. Subbiah B, Blank UKM, Morison KR. A review, analysis and extension of water activity data of sugars and model honey solutions. *Food Chemistry*. 2020;326. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.126981>
9. Blankschtein D. Criteria of phase equilibria, and the Gibbs Phase Rule. In: Blankschtein D, editor. *Lectures in classical thermodynamics with an introduction to statistical mechanics*. Cham: Springer; 2020. pp. 281–289. https://doi.org/10.1007/978-3-030-49198-7_27
10. Soares RM, Câmara MM, Feital T, Pinto JC. Digital twin for monitoring of industrial multi-effect evaporation. *Processes*. 2019;7(8). <https://doi.org/10.3390/pr7080537>
11. Cyklis P. Effect of fouling on falling film evaporator performance in industrial conditions of fruit juice concentrate production. *Journal of Food Engineering*. 2020;317. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2021.110884>
12. Simon AI, Grigoros CG, Rusu L, Dabija A. Modeling of the thermo-physical properties of aqueous sucrose solutions ii. Boiling point, specific heat capacity and thermal conductivity. *Food and Environment Safety*. 2017;10(4):49–56.

13. Yadav D, Sharma TK, Sharma V, Verma OP. Optimizing the energy efficiency of multiple effect evaporator house using metaheuristic approaches. *International Journal of System Assurance Engineering and Management*. 2021. <https://doi.org/10.1007/s13198-021-01429-9>
14. Verma P, Iyer SR, Shah N, Mahajani S. Insights into the crystallization phenomenon in the production of non-centrifugal sugar. *Journal of Food Engineering*. 2021;290. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2020.110259>
15. Tuzhilkin VI, Balykhin MG, Petrov SM, Podgornova NM, Lukin ND, Kovalyonok VA. Mathematical description of the isobaric vaporizing crystallization of sucrose. *Journal of Food Engineering*. 2021;306. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2021.110614>
16. Dias RM, Chiavone-Filho O, Bernardo A, Giulietti M. Vapour-liquid equilibria for (water + ethanol + fructose): Experimental data and thermodynamic modelling. *The Journal of Chemical Thermodynamics*. 2017;115:27–33. <https://doi.org/10.1016/j.jct.2017.07.021>
17. Lei Q, Wang H. Noise-tolerant co-trained semisupervised soft sensor model for industrial process. *IEEE Sensors Journal*. 2022;22(20):19411–19423. <https://doi.org/10.1109/JSEN.2022.3201706>
18. de Castro BJC, Marciniuk Junior M, Giulietti M, Bernardo A. Sucrose crystallization: Modeling and evaluation of production responses to typical process fluctuations. *Brazilian Journal of Chemical Engineering*. 2019;36(3):1237–1253. <https://doi.org/10.1590/0104-6632.20190363s20180240>
19. Kuruba EK, Jagannadha Rao PVK, Khokhar D, Patel S. Technologies for preparation of solid and granular jaggery: A review. *Current Journal of Applied Science and Technology*. 2020;39(30):105–113. <https://doi.org/10.9734/cjast/2020/v39i3030978>
20. Xiao Z, Liao X, Guo S. Analysis of sugarcane juice quality indexes. *Journal of Food Quality*. 2017;2017. <https://doi.org/10.1155/2017/1746982>
21. Martins MJN, Guimarães B, Polachini TC, Telis-Romero J. Thermophysical properties of carbohydrate solutions: Correlation between thermal and transport properties. *Journal of Food Process Engineering*. 2020;43(9). <https://doi.org/10.1111/jfpe.13483>
22. Mncube FS, Love DJ, Sikhakhane P, Ogle D, Mtembu T. Automation of white pans at the Tongaat Hulett refinery. *International Sugar Journal*. 2018;120.
23. Taguchi H, Nakakubo J, Matsuda H, Kurihara K, Tochigi K. Determination of vapor – liquid equilibria at elevated pressures using ebulliometer. *Journal of Chemical Engineering of Japan*. 2016;49(4):317–323. <https://doi.org/10.1252/jcej.14we263>
24. Tuzhilkin VI. Sugar crystallization. Moscow: Moscow State University of Food Production; 2007. 336 p. (In Russ.). [Тужилкин В. И. Кристаллизация сахара. М.: Московский государственный университет пищевых производств, 2007. 336 с.]. <https://www.elibrary.ru/WDJLDC>
25. Ivanov IV, Lotkhov VA, Tikhonov AY, Kulov NN. Vapor-liquid-liquid phase equilibrium in four-component benzene-heptane-n-methylpyrrolidone-sulfolane system. *Theoretical Foundations of Chemical Engineering*. 2015;49(2): 131–143. (In Russ.). <https://doi.org/10.7868/S0040357115020049>
26. Sun L, Lei Q, Peng B, Kontogeorgis GM, Liang X. An analysis of the parameters in the Debye-Hückel theory. *Fluid Phase Equilibria*. 2022;556. <https://doi.org/10.1016/j.fluid.2022.113398>
27. Paese LT, Spengler RL, Soares RP, Staudt PB. Predicting phase equilibrium of aqueous sugar solutions and industrial juices using COSMO-SAC. *Journal of Food Engineering*. 2020;274. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2019.109836>
28. Guedes AR, Corazza ML, Zanoelo EF. Boiling point, specific heat and density measurements and modeling of soybean molasses and its aqueous solutions. *Journal of Food Process Engineering*. 2015;39(3):283–295. <https://doi.org/10.1111/jfpe.12221>
29. Fowkes N, Hennessy MG, Moyles I, Thompson S, Fareo G, Atherfold J. Hard to boil massecuite. *Food and Drink*. 2021;30–53. <https://doi.org/10.33774/miir-2021-thlhl>
30. Moghimi M, Roosta A. Physical properties of aqueous mixtures of (choline chloride + glucose) deep eutectic solvents. *The Journal of Chemical Thermodynamics*. 2019;129:159–165. <https://doi.org/10.1016/j.jct.2018.09.029>
31. Agarwal R, Gupta RR. Computational study of crystallization. In: Gangawane K, Dwivedi M, editors. *Advanced computational techniques for heat and mass transfer in food processing*. Boca Raton: CRC Press; 2022. pp. 211–234. <https://doi.org/10.1201/9781003159520>
32. Elsayed ML, Wu W, Chow LC. High salinity seawater boiling point elevation: Experimental verification. *Desalination*. 2021;504. <https://doi.org/10.1016/j.desal.2021.114955>
33. Umo AM, Alabi SB. Advances in super-saturation measurement and estimation methods for sugar crystallisation process. *International Journal of Food Engineering*. 2016;2(2):108–112. <https://doi.org/10.18178/ijfe.2.2.108-112>

34. Rozsa L, Arriaza GM, Romero MT. Advanced control of crystallisation based on the direct use of on-line data on supersaturation: Theory and Practice. In: Sugar industry technologists annual meeting. China: Guangzhou; 2015.
35. Rózsa L, Rózsa J, Kilpinen S, Mielonen E. Selection of the operating parameters in sugar crystallization control. In: Sugar Industry Technologists' Annual Conference. Florida: Bonita Springs; 2018.
36. Tuzhilkin VI, Klemeshov DA, Donenko GA, Lukin ND. Operational accounting and control of sugar-beet manufacturing. Storage and Processing of Farm Products. 2019;(1):20–34. (In Russ.). [Оперативный учет и контроль свеклосахарного производства / В. И. Тужилкин [и др.] // Хранение и переработка сельхозсырья. 2019. № 1. С. 20–34.]. <https://www.elibrary.ru/EFOWXD>
37. Petrov SM, Zagorulko YeA. Impedancemetric control of sugar massecuite boiling. International Sugar Journal. 2005;107(1284):693–699.
38. de Cindio B. Thermodynamic properties of food materials. In: Jafari SM, editor. Engineering principles of unit operations in food processing. Volume 1: Unit operations and processing equipment in the food industry. Woodhead Publishing; 2021. pp. 65–106. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-818473-8.00002-5>

<https://doi.org/10.21603/2074-9414-2023-4-2475>
<https://elibrary.ru/GGYCQG>

Оригинальная статья
<https://fptt.ru>

Биофункциональная активность *in vivo* хлорогеновой кислоты и биоханина А, выделенных из экстрактов каллусной культуры *Trifolium pratense* L.



И. С. Милентьева^{ID}, А. Д. Веснина*^{ID}, А. М. Федорова^{ID},
Е. В. Остапова^{ID}, Т. А. Ларичев^{ID}

Кемеровский государственный университет^{ROR}, Кемерово, Россия

Поступила в редакцию: 02.05.2023

Принята после рецензирования: 27.06.2023

Принята к публикации: 04.07.2023

*А. Д. Веснина: koledockop1@mail.ru,

<https://orcid.org/0000-0002-4552-7418>

И. С. Милентьева: <https://orcid.org/0000-0002-3536-562X>

А. М. Федорова: <https://orcid.org/0000-0002-8071-4411>

Е. В. Остапова: <https://orcid.org/0000-0002-4704-484X>

Т. А. Ларичев: <https://orcid.org/0000-0003-0166-2527>

© И. С. Милентьева, А. Д. Веснина,

А. М. Федорова, Е. В. Остапова, Т. А. Ларичев, 2023



Аннотация.

Полифенолы представляют интерес как потенциальные нейропротекторы, которые увеличивают продолжительность жизни и замедляют старение. Перспективным источником биологически активных веществ является клевер луговой (*Trifolium pratense* L.), в экстрактах которого присутствуют биоханин А и хлорогеновая кислота. Цель работы – установить наличие/отсутствие влияния полифенолов, выделенных из экстрактов каллусных культур *T. pratense* L. на экспрессию генов *SOD-3* и *HSP-16.2* и антиамилоидной активности с помощью модельных организмов – нематод *Caenorhabditis elegans*.

Объектами исследования являлись хлорогеновая кислота и биоханин А (200, 100, 50 и 10 мкМ) чистотой 95 %, которые выделили из экстрактов каллусов клевера лугового. Влияние полифенолов на экспрессию *SOD-3* и *HSP-16.2* оценивали при тепловом стрессе (35 °С) в течение 5 и 2 ч соответственно, используя *C. elegans* N2 Bristol. Нейропротекторную активность оценивали по количеству парализованных *C. elegans* CL4176 после 18, 40 и 62 ч инкубации.

Установлено, что дозозависимый эффект между концентрацией биологически активных веществ и процентом парализованных нематод наблюдался при 18 ч культивирования. Максимальные результаты уменьшения фенотипа парализации наблюдались при добавлении растворов концентрацией 200 мкМ. Активность 200 мкМ биоханина А была в 1,18 раз выше 200 мкМ раствора хлорогеновой кислоты. Растворы биоханина А увеличивали экспрессию *SOD-3* только в 3,7 раз в сравнении с контролем.

Полученные результаты показали, что исследуемые биологически активные вещества проявляли относительную нейропротекторную активность и способность влиять на экспрессию гена антиоксидантной защиты организма, используя модельный объект *C. elegans*.

Ключевые слова. Старение, болезнь Альцгеймера, нейропротекторы, полифенолы, хлорогеновая кислота, биоханин А, *Caenorhabditis elegans*, β-амилоидный пептид

Финансирование. Работа выполнена в рамках государственного задания по теме «Полифенолы растений СФО: оценка молекулярной и пространственной структуры веществ, характеристика биофункциональных свойств и токсикологических показателей безопасности на модельных системах *in vivo*» (проект FZSR-2023-0002) с использованием оборудования ЦКП «Инструментальные методы анализа в области прикладной биотехнологии» на базе Кемеровского государственного университета (КемГУ)^{ROR}.

Для цитирования: Биофункциональная активность *in vivo* хлорогеновой кислоты и биоханина А, выделенных из экстрактов каллусной культуры *Trifolium pratense* L. / И. С. Милентьева [и др.] // Техника и технология пищевых производств. 2023. Т. 53. № 4. С. 754–765. <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2023-4-2475>

Chlorogenic Acid and Biochanin A from *Trifolium pratense* L. Callus Culture Extract: Functional Activity *In Vivo*



Irina S. Milentyeva^{ID}, Anna D. Vesnina^{*ID}, Anastasiya M. Fedorova^{ID},
Elena V. Ostapova^{ID}, Timothy A. Larichev^{ID}

Kemerovo State University^{ROR}, Kemerovo, Russia

Received: 02.05.2023
Revised: 27.06.2023
Accepted: 04.07.2023

*Anna D. Vesnina: koledockop1@mail.ru,
<https://orcid.org/0000-0002-4552-7418>
Irina S. Milentyeva: <https://orcid.org/0000-0002-3536-562X>
Anastasiya M. Fedorova: <https://orcid.org/0000-0002-8071-4411>
Elena V. Ostapova: <https://orcid.org/0000-0002-4704-484X>
Timothy A. Larichev: <https://orcid.org/0000-0003-0166-2527>

© I.S. Milentyeva, A.D. Vesnina, A.M. Fedorova,
E.V. Ostapova, T.A. Larichev, 2023



Abstract.

Polyphenols are potential neuroprotectors that increase lifespan and slow down aging. Red clover (*Trifolium pratense* L.) is a promising source of biologically active substances. Its extracts contain biochanin A and chlorogenic acid. This research used *Caenorhabditis elegans* to study the effect of polyphenols extracted from red clover callus cultures on *SOD-3* and *HSP-16.2* genes, as well as their anti-amyloid potential.

The chlorogenic acid and biochanin A (200, 100, 50, and 10 μ M) with a purity of 95% were isolated from callus extracts of *T. pratense* L. The effect of polyphenols on *SOD-3* and *HSP-16.2* was assessed after 5 and 2 h of heat stress (35°C), respectively, using *C. elegans* N2 Bristol as model organism. The neuroprotective potential was measured by counting paralyzed nematodes after 18, 40, and 62 h of incubation.

The research established a dose-dependent effect between the concentration of biologically active substances and the percentage of paralyzed nematodes after 18 h of cultivation. The lowest paralysis phenotype count occurred at a concentration of 200 μ M. The activity of 200 μ M biochanin A was 1.18 times as high as that of a 200 μ M chlorogenic acid solution. Biochanin A solutions increased *SOD-3* expression by 3.7 times, compared to the control.

The biologically active substances exhibited relative neuroprotective activity and affected the expression of antioxidant defense gene in *C. elegans*.

Keywords. Aging, Alzheimer's disease, neuroprotectors, polyphenols, chlorogenic acid, biochanin A, *Caenorhabditis elegans*, β -amyloid peptide

Funding. The research was part state task FZSR-2023-0002 “Polyphenols from Siberian Federal District plants: assessment of molecular and spatial structure, characterization of biofunctional properties, and toxicological safety indicators using *in vivo* model systems”. It involved the Shared Use Center for Instrumental Analysis in Applied Biotechnology, Kemerovo State University (KemSU)^{ROR}.

For citation: Milentyeva IS, Vesnina AD, Fedorova AM, Ostapova EV, Larichev TA. Chlorogenic Acid and Biochanin A from *Trifolium pratense* L. Callus Culture Extract: Functional Activity *In Vivo*. Food Processing: Techniques and Technology. 2023;53(4):754–765. (In Russ.). <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2023-4-2475>

Введение

Старение – это биологический, неизбежно возникающий и закономерный процесс снижения биологической функции организма. В результате данного процесса организм становится более восприимчивым к негативным внешним и внутренним факторам окружающей среды [1]. Старение сопровождается развитием хронических заболеваний: диабета 2 типа, онкологии, артрита, почечной дисфункции и т. п.

Особую роль играют когнитивные нарушения – нейродегенеративные заболевания (например, болезнь Альцгеймера) [2, 3].

Болезнь Альцгеймера – это многофакторное заболевание, которое характеризуется ухудшением интеллектуальных способностей организма (снижением памяти, мышления, обучения и понимания, дезориентацией, нарушением самообслуживания, изменением личности и т. п.). Данное заболевание

сопровождается накоплением белковых отложений (бета-амилоидов – $A\beta$) в виде амилоидных бляшек в головном мозге, постоянным окислительным стрессом, воспалительными процессами и т. д. [4, 5]. Система антиоксидантных ферментов является первой линией защиты организма от активных форм кислорода и окислительного стресса. Следовательно, активность ферментов антиоксидантной защиты, например, супероксиддисмутазы (SOD), является важной мишенью для профилактики болезни Альцгеймера [6].

Развитие хронических заболеваний в любом возрасте зависит как от генетических особенностей, так и от образа жизни, в частности питания. Питание как модифицируемый фактор окружающей среды и источник биологически активных веществ (БАВ) способно влиять на состояние организма потребителя. Употребление продуктов питания, содержащих ряд БАВ, способно предотвращать и замедлять развитие хронических заболеваний у людей пожилого и старческого возрастов [1, 7, 8]. Питание (диеты) способно влиять на здоровье потребителя, модулируя нейровоспалительные процессы, которые участвуют в патогенезе болезни Альцгеймера [9]. К нейропротекторным диетам относят средиземноморскую диету и DASH-диету (диетические подходы к остановке гипертензии), способные влиять на когнитивные процессы обусловлена содержанием в рационе полиненасыщенных жирных кислот, витаминов и полифенолов (рис. 1) [1, 10, 11].

Среди потенциальных нейропротекторов, которые увеличивают продолжительность жизни и замедляют старение, особый интерес представляют полифенолы. Полифенолы – это класс органических соединений, являющихся вторичными метаболитами высших растений, которые проявляют противо-

воспалительные, антиоксидантные, антимикробные и другие биологически активные свойства [6, 12]. Куркумин, ресвератрол, апигенин, байкалин, кемпферол, любеолин, эпикатехин, мирицетин, кверцетин, хлорогеновая кислота и прочие природные полифенолы проявляют антиоксидантное и нейропротекторное действие за счет ингибирования выработки $A\beta$, влияя на активность секретируемых ферментов, и/или ингибирования самосборки $A\beta$ в фибриллы [6, 13]. В исследовании L. Xin и др. установлено наличие ингибирующего действие на $A\beta$ метаболитов *Lycoris radiata* [14]. Y. Wu с соавторами доказали, что экстракт листьев *Ginkgo biloba* ингибирует паралич, вызванный $A\beta$ [15]. Следовательно, растения являются перспективным сырьем для извлечения веществ-кандидатов в нейропротекторы.

Среди растений одним из перспективных источников БАВ является клевер луговой (*Trifolium pratense* L.) [16]. Среди метаболитов, преобладающих в экстрактах данного растения, выделяют биоханин А и хлорогеновую кислоту [17, 18].

Хлорогеновая кислота – это полифенол растительного происхождения, который проявляет антиоксидантные, антибактериальные, антигистаминные, противовоспалительные, обезболивающие, гепатопротекторные, противораковые и нейропротекторные свойства. Это позволяет отнести кислоту к перспективным кандидатам в нейропротекторы [19–22]. В научной литературе представлена информация о том, что хлорогеновая кислота используется для борьбы с болезнями Альцгеймера и Паркинсона [23]. Работы S. F. Nabavi с соавторами и S. S. Singh с соавторами подтверждают наличие нейропротекторной активности (на моделях *in vitro* и *in vivo*) хлорогеновой кислоты [24, 25]. Молекулярные механизмы



Рисунок 1. Принцип биологической активности основных веществ-нейропротекторов

Figure 1. Biological activity of neuroprotective substances

нейропротекторного действия *T. pratense* L. сложны, но обусловлены антиоксидантной и противовоспалительной активностями хлорогеновой кислоты. В работе А. Amato и др. говорится о том, что хлорогеновая кислота способна защищать нейроны от апоптоза и ингибировать агрегацию Аβ [26].

Биоханин А (5,7-дигидроксид-4'-метокси-изофлавоон) представляет собой О-метилованный изофлавоон, который проявляет антиоксидантную, противовоспалительную, эстрогеноподобную и глюкозо-липидную модулирующую активности, а также профилактические и нейропротекторные эффекты [27]. В работе J. W. Tan и M. K. Kim представлены данные, которые доказывают наличие нейропротекторной активности биоханина А: способность к ингибированию Аβ и апоптоза (*in vitro* на клеточных моделях) [27]. В работе S. M. Biradar и др. представлены результаты, которые подтверждают наличие нейропротекторных свойств биоханина А, способного улучшать память у молодых и старых мышей [28]. В работе K. Youn и др. показано, что биоханин А ингибирует активность белка, предшествующего в образовании Аβ *in vitro* [29].

Цель работы – установить биофункциональное воздействие полифенолов (биоханина А и хлорогеновой кислоты), выделенных из экстрактов каллусных культур *T. pratense* L., на экспрессию генов *SOD-3* и *HSP-16.2* и антиамилоидной активности с помощью модельных организмов *Caenorhabditis elegans*.

В качестве модельных организмов выбраны нематоды *C. elegans*, которые обладают преимуществами в сравнении с другими модельными организмами: полностью секвенированный геном, в котором обнаружена генетическая основа старения; схожие с человеком изменения в поведении и физиологических показателях здоровья (стрессоустойчивость, дегенерация нервной системы, изменения в структуре мышечной ткани); небольшой размер (около 1 мм в длину для взрослых особей) и прозрачное тело; простота культивирования и размножения (большое производство потомства – около 300 особей за счет самооплодотворения); короткий жизненный цикл (около 21 дня для дикого типа) [30–33]. Данные модельные объекты используются в исследованиях, связанных с ожирением, старением и нейродегенеративными заболеваниями (например, болезнь Альцгеймера) [34].

Для изучения болезни Альцгеймера сконструированы трансгенные модели *C. elegans*, в которых экспрессируется белок Аβ человека в мышечных тканях либо нейронах [12, 34]. Примерами трансгенных штаммов, экспрессирующих Аβ, являются CL4176 и GMC101, которые вырабатывают Аβ в мышцах стенки тела при изменении (повышении) температуры с 15 до 25 °С. В результате этого происходит парализация, приводящая к болезни Альцгеймера. То есть антиамилоидная активность (или нейропротекторная активность) при использовании данных трансгенных штаммов выражается в отсутствии

или снижении числа парализованных нематод при их культивировании с повышением температуры до 25 °С [35–37]. В процессе старения экспрессия генов у *C. elegans* изменяется [38, 39]. У старых особей происходит снижение уровня мРНК генов, отвечающих за белки теплового шока (sHSP), и антиоксидантных ферментов (например, супероксиддисмутазы) [40]. Установлено, что сверхэкспрессия шаперонного белка *HSP-16.2* у нематод приводит к ингибированию токсичности Аβ человека [34].

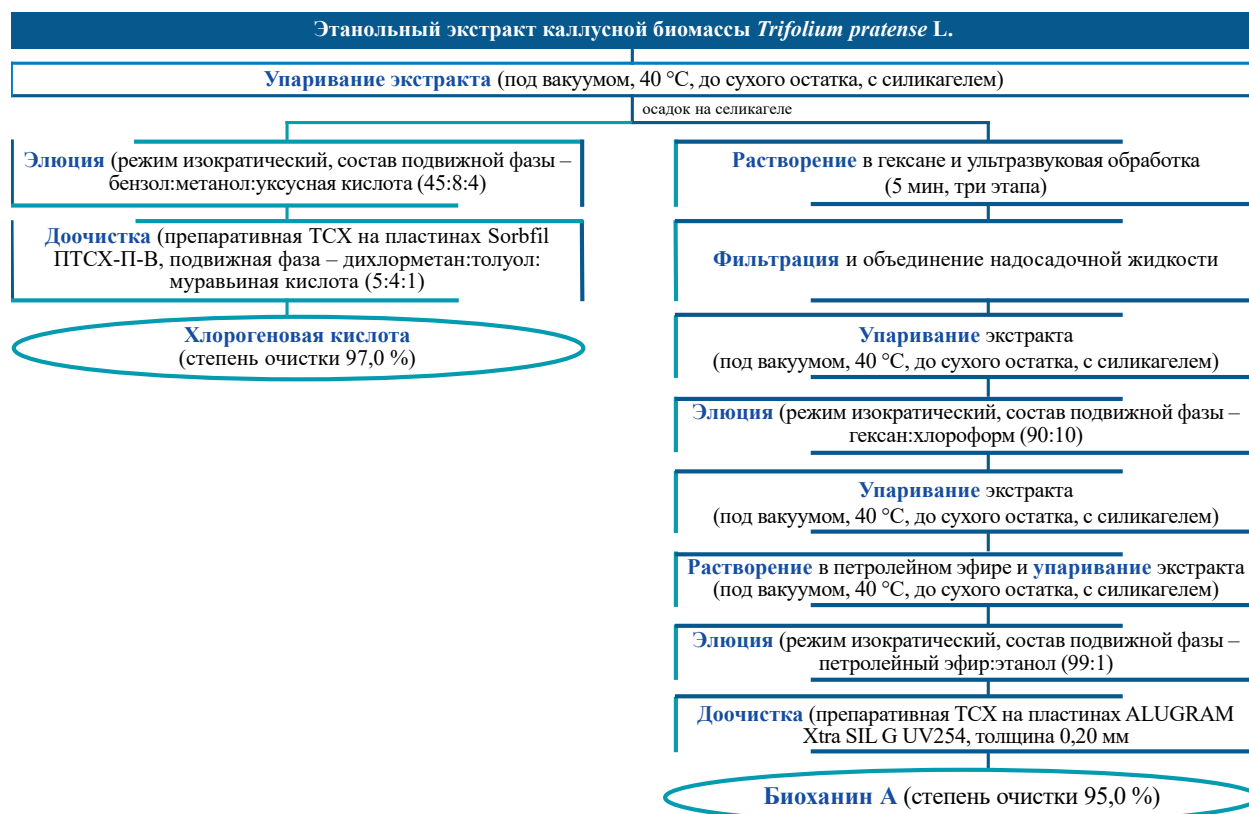
Каллусная культура в данном исследовании выбрана в качестве сырья для извлечения БАВ, т. к. биотехнологические методы культивирования *in vitro* позволяют получать богатое растительное сырье, независимо от климатических и сезонных условий, не изымая биообъект из сферы его обитания [41].

Объекты и методы исследования

Объектами исследования являлись хлорогеновая кислота и биоханин А, выделенные из экстрактов каллусной культуры *Trifolium pratense* L. Подробно этапы получения каллусной культуры и экстрактов представлены в работе L. S. Dyshlyuk и др. [42]. Каллусы получены из поврежденных в стерильных условиях проростков (семена приобретены в коллекции Е. К. Сироткина, Россия), выращенных на агаризованной питательной среде Гамборга, модифицированной кинетином (2,00 мг/л), 6-БАП (0,10 мг/л), ИУК (2,00 мг/л) и 2,4-Д (2,00 мг/л) [43]. Экстракты каллусных культур получили при 6 ч экстракции с использованием обратного холодильника и водяной бани при 70,00 ± 5,00 °С; экстрагентом являлся 70,00 % водно-этанольный раствор.

Выделение хлорогеновой кислоты и биоханина А из экстракта каллусной культуры клевера лугового (*T. pratense* L.) описано в работе E. R. Faskhutdinova с соавторами и G. R. Malca-Garcia с соавторами [44, 45]. Схема выделения представлена на рисунке 2. Степень очистки хлорогеновой кислоты и биоханина А составляла не менее 95,00 %.

Для оценки биологической активности целевых веществ использовали модельные организмы – дикий штамм *Caenorhabditis elegans* N2 Bristol (для изучения уровня экспрессии *SOD-3* и *HSP-16.2*) и трансгенный *C. elegans* CL4176 (dvIs27[myo-3p::Aβ(1-42)::let-851 3'UTR]+rol-6(su1006)] (для изучения болезни Альцгеймера). Модельные организмы предоставлены лабораторией разработки инновационных лекарственных средств и агробиотехнологий Московского физико-технического института (национальный исследовательский университет) (Долгопрудный, Россия) [46]. Для получения растворов БАВ различной концентрации готовили стоковые растворы в диметилсульфоксиде концентрацией 10 ммоль/л. Затем из стоков получали рабочие растворы с концентрациями 200, 100, 50 и 10 мкМ, добавляя дистиллированную воду.

Рисунок 2. Схема выделения целевых веществ из экстракта каллусной культуры *Trifolium pratense* L.Figure 2. Isolating target substances from *Trifolium pratense* L. callus extract

Протокол по выращиванию *C. elegans* CL4176 и исследования нейротекторной активности взят из работы V. Dostal и C. D. Link [47]. На начальных этапах осуществляли синхронизацию поколения родителей: помещали 20–30 беременных особей на чашки с агаризованной средой NGM (чашки Петри 60 мм), покрытой *Escherichia coli* OP50. Особей выдерживали в течение 2 ч при 16 °C (допустимая температура для CL4176), затем удаляли беременных взрослых особей, оставляя их потомство расти в течение 7 дней (до их взрослой и беременной стадии). Затем данных особей использовали для получения тестовых популяций: перемещали 10–12 беременных взрослых особей на NGM, покрытой *E. coli* OP50, и выдерживали их в течение 2 ч при 16 °C для кладки яиц. Затем взрослых особей удаляли и использовали в эксперименте их потомство (яйца).

Проведение эксперимента: за один день до начала анализа приготовили среды NGM с *E. coli* OP50 и с добавлением исследуемых растворов БАВ различной концентрации. Через 48 ч после окончания синхронизации кладки яиц (особи находятся на личиночной стадии – L3) повышали температуру чашек до 25 °C. Через 18–20 ч особи достигают стадии L4 и начинается подсчет количества парализованных нематод. Подсчет парализованных нематод осуществ-

лялся на 18, 40 и 62 ч культивирования для того, чтобы оценить продолжительность защиты парализованных особей от нейротоксичного действия Аβ после обработки БАВ. Продолжительность культивирования в 62 ч взята из работы E. R. Faskhutdinova и др., в которой в течение данного времени оценивали продолжительность жизни нематод [44]. Парализованными считаются нематоды, которые потеряли способность поступательно перемещаться в пространстве с характерной зигзагообразной подвижностью. Наблюдения за нематодами осуществляли с помощью микроскопа Axio Observer Z1 (Carl Zeiss AG, Германия).

Контрольные образцы – нематоды, культивируемые в представленных выше условиях, но без добавления растворов БАВ различной концентрации.

Штамм *E. coli* OP50, который использовался в качестве пищи для нематод, предоставлен институтом молекулярной биологии имени В. А. Энгельгардта РАН (Москва, Россия). Для получения стартовой культуры штамма *E. coli* OP50 одну колонию выращивали в 5 мл среды LB в течение ночи ($12,0 \pm 0,5$ ч) при 37 °C при интенсивном перемешивании.

Состав сред NGM, S-среды и LB представлен в работе [48].

Протокол по выращиванию *C. elegans* N2 Bristol представлен в работе R. R. Sonani и др. [49]. На

начальных этапах получали синхронизированные личинки по возрасту: 5–10 беременных взрослых особей перемещали на агаризованную среду NGM (чашки Петри 60 мм), покрытую *E. coli* OP50. Особям давали откладывать яйца в течение 3 ч при температуре 20 °С с последующим удалением взрослых особей. Чашки с изолированными яйцами обрабатывали водным раствором NaClO (соотношение соль:вода 1:5) для разрушения кутикулы червей. Через 12–14 ч из изолированных яиц вылупляются личинки L1.

Для анализа экспрессии гена *SOD-3* в каждую ячейку 24-луночного планшета вносили 900 мкл суспензии нематод стадии L1 (находящихся в S-среде), смешанную с *E. coli* OP50, и по 100 мкл каждого из тестируемых БАВ различной концентрации. Планшет заклеивали пленкой и оставляли на 72 ч при температуре 20 °С до достижения нематодами стадии развития L4. Затем планшет помещали в термостат (камера KBF-S ECO Solid.Line (Binder GmbH, Германия)) на 35 °С в течение 5 ч (создание теплового стресса) [50].

Для анализа экспрессии гена *HSP-16.2* в каждую ячейку 24-луночного планшета вносили по 900 мкл суспензии нематод стадии L1 (находящихся в S-среде), смешанную с *E. coli* OP50. Планшет заклеивали пленкой и инкубировали 48 ч при температуре 20 °С до достижения нематодами стадии L4. По истечении 48 ч планшет помещали в инкубатор при 35 °С на 2 ч (создание теплового стресса). По истечении 2 ч планшет охлаждали до 20 °С и в лунки добавляли 100 мкл исследуемых БАВ различной концентрации. Затем продолжили инкубацию нематод в течение 5 дней при 20 °С.

Эксперимент проводили с 2-кратным повтором для каждого экстракта с таким расчетом, чтобы получить не менее 1000 нематод для каждого тестируемого условия. По истечении 5 и 20 ч для объектов, отобранных на исследование экспрессии *SOD-3* и *HSP-16.2* соответственно, нематоды переносили в пробирку типа Эппендорф, которую подвергали центрифугированию при 1000 g в течение 2 мин.

В соответствии с инструкциями производителей мы выделяли РНК из осадка нематод с использованием набора ExtractRNA (BC032, ЗАО «Евроген», Москва); определяли количество РНК, выделенной из нематод, на приборе Nanodrop 2000C (Thermo Scientific, США); проводили синтез первой цепи кДНК с использованием набора реактивов MMLV RT kit (SK021, ЗАО «Евроген», Москва). Амплификацию РНК проводили на приборе CFX96 RealTime System («Bio-Rad Laboratories», США) на основе одноэтапного подхода с использованием реакционной смеси 5X qPCRmix-HS SYBR (PK147S, ЗАО «Евроген», Москва), предназначенной для ПЦР в режиме реального времени с интеркалирующим красителем SYBER Green I. Определение уровня экспрессии генов *SOD-3* и *HSP-16.2* в нематодах, обработанных хлорогеновой

кислотой и биоханином А, проводили в сравнении с экспрессией этих генов в контрольных образцах. Количественные значения экспрессии генов нормализовали по отношению к уровню экспрессии референтных генов *AMA* или *ACT*, которые определяли в тех же условиях амплификации в режиме реального времени и с тем же количеством тестируемой кДНК.

Относительную экспрессию генов (*RE*) рассчитывали по уравнению (1) по методу Дельта-Дельта [51]

$$RE = E^{-\Delta\Delta Ct} \quad (1)$$

где *E* – эффективность амплификации (равна 2,0).

Нормализация по среднему референсных генов представлена в уравнении (2)

$$\Delta C(t) = C(t)_{\text{target}} - C(t)_{\text{reference}} \quad (2)$$

где $C(t)_{\text{reference}}$ – среднее геометрическое $C(t)$ референсных генов (для мРНК); $C(t)_{\text{target}} - C(t)$ генов-мишеней.

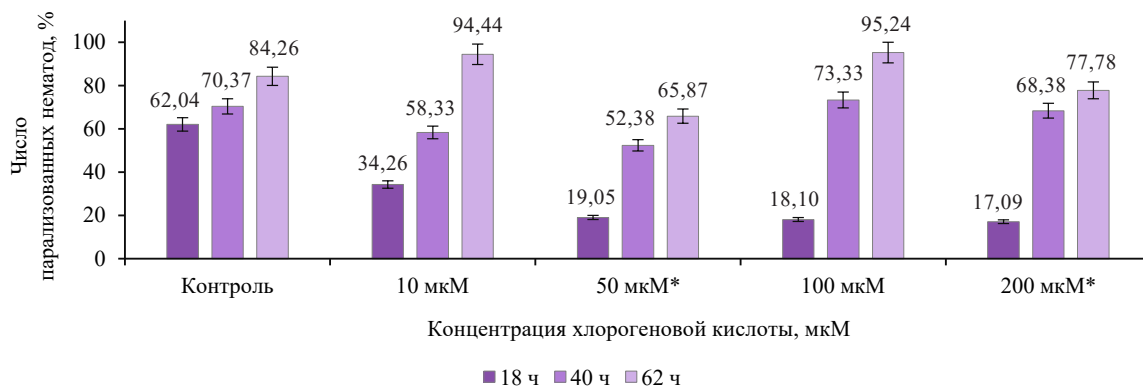
Более подробно расчет *RE* представлен в работах [51, 52].

Все эксперименты проводили в трехкратной повторности. Результаты выражали в виде среднего значения ± стандартное отклонение. В таблицах и рисунках представлены значения с «*» – это значения, отличающиеся от других ($p < 0,05$). Для обработки данных по оценке нейротекторной активности использовали график выживания Каплана – Мейера в сочетании с критерием логарифмического ранга (Мантела – Кокса). Оценку осуществляли с помощью онлайн-приложения OASIS (<https://sbi.postech.ac.kr/oasis2>). Для обработки данных по влиянию БАВ на экспрессию *SOD-3* и *HSP-16.2* использовали оценку по *post hoc* критерию Тьюки. Для анализа использовали программу Statistica 10.0 (StatSoft, Inc., США).

Результаты и их обсуждения

Влияние растворов хлорогеновой кислоты и биоханина А, выделенных из экстракта каллусной культуры клевера лугового *Trifolium pratense* L., различной концентрации на парализацию нематод *Caenorhabditis elegans* CL4176 представлено на рисунках 3 и 4.

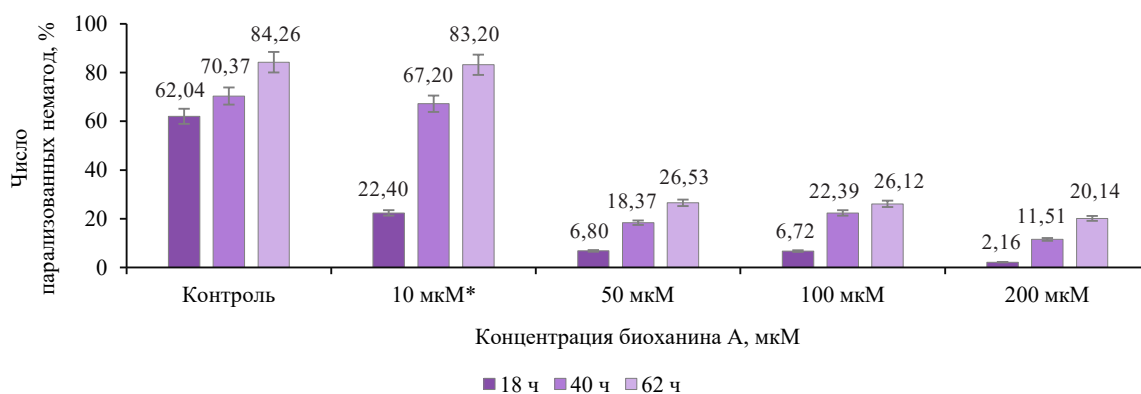
На 18 ч культивирования все растворы БАВ с добавлением растворов хлорогеновой кислоты снижали количество парализованных особей. Нейротекторная активность растворов зависела от концентрации раствора, т. е. наблюдался дозозависимый эффект: с уменьшением концентрации увеличивалось число парализованных нематод. Соответственно, при добавлении раствора концентрацией 200 мкМ процент парализованных особей был ниже в 3,63 %, чем у контроля. На 40 и 62 ч культивирования дозозависимого эффекта не наблюдалось: наименьший процент парализованных особей достигался при добавлении 50 мкМ раствора хлорогеновой кислоты.



«*» – достоверные различия с помощью логарифмического рангового критерия ($p < 0,05$)

Рисунок 3. Процент парализованных *Caenorhabditis elegans* CL4176, культивируемых при 25 °C и добавлении растворов хлорогеновой кислоты различной концентрации

Figure 3. Paralyzed *Caenorhabditis elegans* CL4176 at 25°C in different chlorogenic acid concentrations



«*» – достоверные различия с помощью логарифмического рангового критерия ($p < 0,05$)

Рисунок 4. Процент парализованных *Caenorhabditis elegans* CL4176, культивируемых при 25 °C и добавлении растворов биоханина А различной концентрации

Figure 4. Paralyzed *Caenorhabditis elegans* CL4176 at 25°C in different biochanin A concentrations

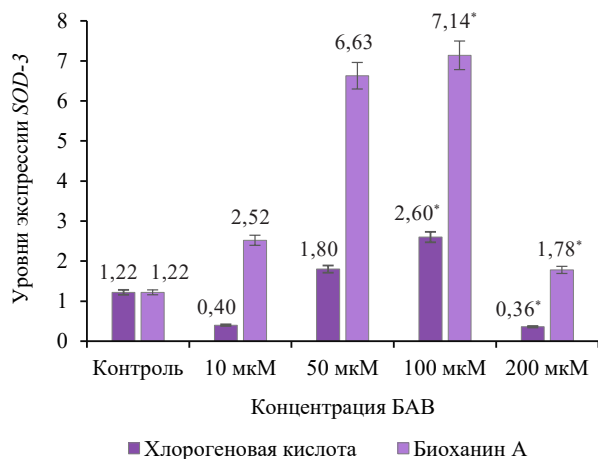
При добавлении растворов биоханина А доза-зависимый эффект наблюдался на 18 ч культивирования: процент парализованных нематод был в 3,03 раза ниже в сравнении с контролем. Также доза-зависимый эффект наблюдался на 62 ч культивирования, но различия между добавлением 50 и 100 мкМ раствора незначительны. Нейропротекторная активность на 18 ч была максимальна при добавлении 200 мкМ раствора биоханина А (процент парализованных нематод был ниже на 59,88 % в сравнении с контролем).

При оценке динамики парализации нематод в течение 62 ч установлено, что наличие растворов хлорогеновой кислоты и биоханина А различной концентрации не способствовало уменьшению числа парализованных особей.

При сравнении влияния растворов БАВ на 18 ч культивирования установили, что растворы биоханина А проявляли в 1,16 раз большую нейропротекторную активность, чем растворы с хлорогеновой кислотой. Фенотип парализации максимально уменьшался при использовании 200 мкМ раствора биоханина А (процент непарализованных нематод был в 1,18 раз выше, чем при влиянии 200 мкМ раствора хлорогеновой кислоты).

Отсутствие значительных изменений влияния растворов БАВ с 40 до 62 ч связано с нецелесообразностью культивирования *C. elegans* CL4176 в течение 62 ч. В ряде работ влияние БАВ на парализацию оценивают в течение 30–40 ч с интервалом в 2 ч [47, 53, 54].

Результаты оценки влияния растворов хлорогеновой кислоты и биоханина А на уровни экспрессии гена *SOD-3* в нематодах представлены на рисунке 5 и выражены в относительных единицах уровня экспрессии целевых генов *SOD-3* и *HSP-16.2* в испытуемых образцах.



Примечание. Значения для растворов хлорогеновой кислоты концентраций 10–100 мкМ представлены в 10^{-1} («*») – значения отличаются от других ($p < 0,05$), оценка по *post hoc* критерию Тьюки)

Рисунок 5. Влияние растворов БАВ на экспрессию *SOD-3* у *Caenorhabditis elegans* N2 Bristol

Figure 5. Effect of biologically active substances on *SOD-3* in *Caenorhabditis elegans* N2 Bristol

Результаты анализа экспрессии гена *SOD-3* у *C. elegans* N2 Bristol на тепловой стресс показали, что наличие хлорогеновой кислоты в концентрациях 10 и 200 мкМ не привело к значительному увеличению экспрессии гена в сравнении с контролем. Добавление БАВ в концентрации 50 и 100 мкМ приводило к увеличению экспрессии гена в среднем в 1,8 раз.

По сравнению с контролем наличие биоханина А увеличивало экспрессию *SOD-3* в среднем в 3,7 раз. Дозазависимый эффект наблюдался при добавлении биоханина А концентраций от 10 до 100 мкМ. При добавлении 100 мкМ раствора уровень экспрессии был выше в 5,85 раз.

Результаты оценки влияния растворов хлорогеновой кислоты и биоханина А различной концентрации на уровни экспрессии гена *HSP-16.2* в нематодах представлены на рисунке 6.

Результаты анализа экспрессии гена *HSP-16.2* у *C. elegans* N2 Bristol на тепловой стресс показали, что добавление хлорогеновой кислоты в процессе культивирования не привело к увеличению экспрессии *HSP-16.2* в сравнении с контролем. Исключение составила хлорогеновая кислота концентрацией 200 мкМ, добавление которой вызвало незначительное увеличение уровня экспрессии гена в 1,48 раз. Наличие биоханина А не привело к увеличению экспрессии гена. Исключение составил раствор биоханина А концентрацией 10 мкМ, добавление которого увеличило уровень экспрессии гена в 1,58 раз.

Положительное влияние на парализацию нематод с одновременным отсутствием влияния на экспрессию *HSP-16.2* возможно, т. к. в ответе на стрессовые условия, помимо HSP, принимают участие другие гены

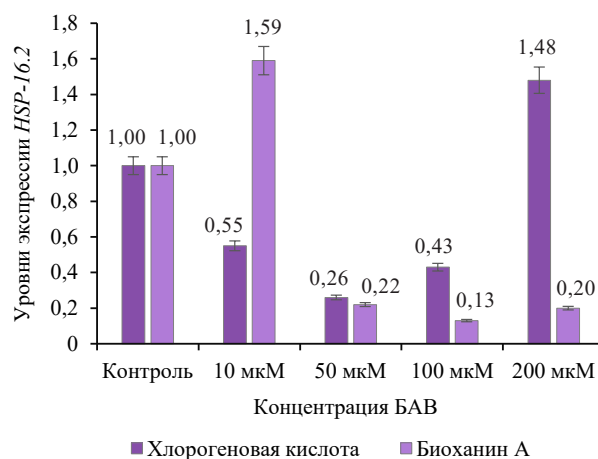


Рисунок 6. Влияние растворов БАВ различной концентрации на экспрессию гена *HSP-16.2* у *Caenorhabditis elegans* N2 Bristol

Figure 6. Effect of biologically active substances on *HSP-16.2* in *Caenorhabditis elegans* N2 Bristol

стрессоустойчивости – *HSF-1*, *DAF-16* и т. д. [55]. В ходе данного исследования выбран не тот маркер (целевой ген, влияющий на белки теплового шока).

В ходе проведенного авторами обзора научной литературы установлено отсутствие публикаций, в которых осуществлялись исследования по оценке наличия/отсутствия у биоханина А и хлорогеновой кислоты нейропротекторной активности на модельных объектах *C. elegans*. Однако имеется исследование, направленное на изучение влияния кофейной кислоты (хлорогеновая кислота является производной данного соединения) на стрессоустойчивость и экспрессию ряда генов, в частности *SOD-3* у *C. elegans* [55]. В данном исследовании установлено, что кофейная кислота (200 мкМ) положительно влияет на выживаемость нематод в условиях стресса, а также способна увеличивать экспрессию *SOD-3*.

В ходе литературного обзора установлено, что биоханин А является перспективным веществом с высокой антиоксидантной защитой клеток за счет регуляции экспрессии генов, участвующих в антиоксидантной защите организма. Например, *SOD-3*. В исследовании В. Haridevamuthu и др. доказано, что биоханин А способен восстанавливать антиоксидантную защиту в модельном объекте – *Danio rerio* [56]. В исследовании Y. Zhou и др. показано, что биоханин А способен повышать активность внутриклеточных антиоксидантных ферментов, в том числе *SOD-3* у крыс [57]. Однако нейропротекторное действие данного вещества до сих пор не установлено. Предположительно наличие нейропротекторной активности за счет снижения уровня оксидантов и медиаторов воспаления [58].

Несмотря на то что в данном исследовании часть растворов хлорогеновой кислоты проявляла способность влиять на экспрессию генов и сокращать число парализованных нематод, в научной литературе представлены данные, которые подтверждают нейропротекторную активность данного вещества. В обзорном исследовании K. Socała и др. представлены данные, которые доказывают способность хлорогеновой кислоты повышать активность *SOD-3*, уменьшать окислительный стресс и нейровоспаление, проявлять антиамилоидогенное действие и ингибировать активность фермента ацетилхолинэстеразы, участвующего в развитии болезни Альцгеймера на грызунах [59].

Выводы

В связи с увеличением количества людей пожилого возраста, страдающих от болезни Альцгеймера, эффективными являются направления по поиску новых или совершенствованию существующих лекарств, профилактических средств и т. п. Правильно подобранная диета (дополнительный систематический прием биологически активных добавок и функциональных продуктов на их основе) является эффективным средством профилактики социально значимых заболеваний, в частности болезни Альцгеймера.

В данной работе изучали нейропротекторную активность (ингибирующее действие $A\beta$, влияние на экспрессию ряда генов) метаболитов каллусной культуры клевера лугового *Trifolium pratense* L. (хлорогеновой кислоты и биоханина А) на модельных объектах *Caenorhabditis elegans* с перспективой их дальнейшего использования в качестве функциональных пищевых ингредиентов профилактической направленности.

Для всех исследуемых растворов биоханина А и хлорогеновой кислоты установлено, что с увеличением продолжительности культивирования повышается количество парализованных нематод, т. е. уменьшается защита от парализации. Все объекты исследования в концентрации 200 мкМ ингибиро-

вали активность $A\beta$, влияя на паралич *C. elegans* CL4176, культивируемых в течение 18 ч при повышении температуры до 25 °С. Однако биоханин А проявлял высокую активность по ингибированию паралича в сравнении с хлорогеновой кислотой. Результаты по оценке влияния растворов БАВ на экспрессию *SOD-3* у *C. elegans* N2 Bristol показали, что биоханин А проявил более выраженное воздействие на экспрессию в ответ на температурный стресс. Следовательно, по данным *in vivo* целевые БАВ, выделенные из экстрактов каллусной культуры клевера лугового, можно использовать в качестве потенциальных нейропротекторов. Например, в виде биологически активных или пищевых добавок.

Перспективными являются исследования, направленные на оценку наличия/отсутствия влияния смесей данных БАВ в различном соотношении на наличие нейропротекторного воздействия на нематоды, с использованием дополнительных маркеров риска развития болезни Альцгеймера. Например, генов *DAF-16*, *DAF-18*, *SKN-1*, *CTL-1*, *HSF-1* и *SIR-2.1*.

Критерии авторства

Все авторы внесли равный вклад в создание исследования, обработку и анализ полученных результатов, а также в оформлении статьи.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Contribution

All authors equally contributed to the research development, processing, data analysis, and the manuscript design.

Conflict of interest

The authors declare that there is no conflict of interest regarding the publication of this article.

References/Список литературы

1. Abate G, Marziano M, Rungratanawanich W, Memo M, Uberti D. Nutrition and AGE-ing: Focusing on Alzheimer's disease. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. 2017;2017. <https://doi.org/10.1155/2017/7039816>
2. Gonzalez-Freire M, Diaz-Ruiz A, Hauser D, Martinez-Romero J, Ferrucci L, Bernier M, et al. The road ahead for health and lifespan interventions. *Ageing Research Reviews*. 2020;59. <https://doi.org/10.1016/j.arr.2020.101037>
3. Bitto A, Wang AM, Bennett CF, Kaeblerlein M. Biochemical genetic pathways that modulate aging in multiple species. *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine*. 2015;5. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a025114>
4. Rusek M, Pluta R, Ułamek-Kozioł M, Czuczwar SJ. Ketogenic diet in Alzheimer's disease. *International Journal of Molecular Sciences*. 2019;20(16). <https://doi.org/10.3390/ijms20163892>
5. Collins AE, Saleh TM, Kalisch BE. Naturally occurring antioxidant therapy in Alzheimer's disease. *Antioxidants*. 2022;11(2). <https://doi.org/10.3390/antiox11020213>
6. Wang Y, Wang K, Yan J, Zhou Q, Wang X. Recent progress in research on mechanisms of action of natural products against Alzheimer's disease: Dietary plant polyphenols. *International Journal of Molecular Sciences*. 2022;23(22). <https://doi.org/10.3390/ijms232213886>

7. Prosekov AYu, Ostroumov LA. Innovation management biotechnology of starter cultures. Food Processing: Techniques and Technology. 2016;43(4):64–69. (In Russ.). [Просеков А. Ю., Остроумов Л. А. Инновационный менеджмент биотехнологий заквасочных культур // Техника и технология пищевых производств. 2016. Т. 43. № 4. С. 64–69.]. <https://www.elibrary.ru/XELELB>
8. Kharitonov DV, Kharitonova IV, Prosekov AYu. The concept of synbiotics and synbiotic dairy products development. Food Processing: Techniques and Technology. 2013;31(4):91–94. (In Russ.). [Харитонов Д. В., Харитонова И. В., Просеков А. Ю. Разработка концепции создания синбиотиков и синбиотических молочных продуктов // Техника и технология пищевых производств. 2013. Т. 31. № 4. С. 91–94.]. <https://www.elibrary.ru/RNIEON>
9. Vesnina A, Prosekov A, Atuchin V, Minina V, Ponasenko A. Tackling atherosclerosis via selected nutrition. International Journal of Molecular Sciences. 2022;23(15). <https://doi.org/10.3390/ijms23158233>
10. McGrattan AM, McGuinness B, McKinley MC, Kee F, Passmore P, Woodside JV, *et al.* Diet and inflammation in cognitive ageing and Alzheimer's disease. Current Nutrition Reports. 2019;8:53–65. <https://doi.org/10.1007/s13668-019-0271-4>
11. Hu N, Yu J-T, Tan L, Wang Y-L, Sun L, Tan L. Nutrition and the risk of Alzheimer's disease. BioMed Research International. 2013;2013. <https://doi.org/10.1155/2013/524820>
12. Shen N, Wang T, Gan Q, Liu S, Wang L, Jin B. Plant flavonoids: Classification, distribution, biosynthesis, and antioxidant activity. Food Chemistry. 2022;383. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2022.132531>
13. Dhakal S, Kushairi N, Phan CW, Adhikari B, Sabaratnam V, Macreadie I. Dietary polyphenols: A multifactorial strategy to target Alzheimer's disease. International Journal of Molecular Sciences. 2019;20(20). <https://doi.org/10.3390/ijms20205090>
14. Xin L, Yamujala R, Wang Y, Huan W, Wu W-H, Lawton MA, *et al.* Acetylcholinesterase-inhibiting alkaloids from *Lycoris radiata* delay paralysis of amyloid beta-expressing transgenic *C. elegans* CL4176. PloS ONE. 2013;8(5). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0063874>
15. Wu Y, Wu Z, Butko P, Christen Y, Lambert MP, Klein WL, *et al.* Amyloid-beta-induced pathological behaviors are suppressed by *Ginkgo biloba* extract EGb 761 and ginkgolides in transgenic *Caenorhabditis elegans*. Journal of Neuroscience. 2006;26(50):13102–13113. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.3448-06.2006>
16. Nguyen TS, Alekseeva GM, Generalova YuE, Kaukhova IE, Sorokin VV. Determination of isoflavone content by HPLC in dried extract of *Trifolium pratense* L. Journal of Pharmaceuticals Quality Assurance Issue. 2020;27(1):48–53. (In Russ.). <https://doi.org/10.34907/JPQAI.2020.60.61.006>
17. Dyshlyuk LS, Osintseva MA, Kozlova OV, Fotina NV, Prosekov AYu. Antiradical and oxidative stress release properties of *Trifolium pratense* L. extract. Journal of Experimental Biology and Agricultural Sciences. 2022;10(4):852–860. [https://doi.org/10.18006/2022.10\(4\).852.860](https://doi.org/10.18006/2022.10(4).852.860)
18. Temerdashev ZA, Chubukina TK, Vinitskaya EA, Nagalevskii MV, Kiseleva NV. Assessment of the concentrations of isoflavonoids in red clover (*Trifolium pratense* L.) of the *Fabaceae* family using extraction by different methods. Journal of Analytical Chemistry. 2021;76(9):819–831. (In Russ.). <https://doi.org/10.31857/S0044450221090115>
19. Bijttebier S, van der Auwera A, Voorspoels S, Noten B, Hermans N, Pieters L, *et al.* A first step in the quest for the active constituents in *Filipendula ulmaria* (meadowsweet): Comprehensive phytochemical identification by liquid chromatography coupled to quadrupole-orbitrap mass spectrometry. Planta Medica. 2016;82(6):559–572. <https://doi.org/10.1055/s-0042-101943>
20. Kapil A, Koul IB, Suri OP. Antihepatotoxic effects of chlorogenic acid from *Anthocephalus cadamba*. Phytotherapy Research. 1995;9(3):189–193. <https://doi.org/10.1002/ptr.2650090307>
21. Rashidi R, Rezaee R, Shakeri A, Wallace Hayes A, Karimi G. A review of the protective effects of chlorogenic acid against different chemicals. Journal of Food Biochemistry. 2022;46(9). <https://doi.org/10.1111/jfbc.14254>
22. Dmitrieva A, Vesnina A, Dyshlyuk L. Antioxidant and antimicrobial properties of squalene from *Symphytum officinale* and chlorogenic acid from *trifolium pratense*. AIP Conference Proceedings. 2022;2636(1). <https://doi.org/10.1063/5.0104513>
23. Ishida K, Yamamoto M, Misawa K, Nishimura H, Misawa K, Ota N, *et al.* Coffee polyphenols prevent cognitive dysfunction and suppress amyloid β plaques in APP/PS2 transgenic mouse. Neuroscience Research. 2020;154:35–44. <https://doi.org/10.1016/j.neures.2019.05.001>
24. Nabavi SF, Tejada S, Setzer WN, Gortzi O, Sureda A, Braid N, *et al.* Chlorogenic acid and mental diseases: From chemistry to medicine. Current Neuropharmacology. 2017;15(4):471–479. <https://doi.org/10.2174/1570159X14666160325120625>
25. Singh SS, Rai SN, Birla H, Zahra W, Kumar G, Gedda MR, *et al.* Effect of chlorogenic acid supplementation in MPTP-intoxicated mouse. Frontiers in Pharmacology. 2018;9. <https://doi.org/10.3389/fphar.2018.00757>
26. Amato A, Terzo S, Mulè F. Natural compounds as beneficial antioxidant agents in neurodegenerative disorders: A focus on Alzheimer's disease. Antioxidants. 2019;8(12). <https://doi.org/10.3390/antiox8120608>
27. Tan JW, Kim MK. Neuroprotective effects of biochanin A against β -amyloid-induced neurotoxicity in PC12 cells via a mitochondrial-dependent apoptosis pathway. Molecules. 2016;21(5). <https://doi.org/10.3390/molecules21050548>

28. Biradar SM, Joshi H, Chheda TK. Biochanin-A ameliorates behavioural and neurochemical derangements in cognitive-deficit mice for the betterment of Alzheimer's disease. *Human and Experimental Toxicology*. 2014;33(4):369–382. <https://doi.org/10.1177/0960327113497772>
29. Youn K, Park J-H, Lee J, Jeong W-S, Ho C-T, Jun M. The identification of biochanin A as a potent and selective β -site app-cleaving enzyme 1 (BACE1) inhibitor. *Nutrients*. 2016;8(10). <https://doi.org/10.3390/nu8100637>
30. Park H-EH, Jung Y, Lee S-JV. Survival assays using *Caenorhabditis elegans*. *Molecules and Cells*. 2017;40(2):90–99. <https://doi.org/10.14348/molcells.2017.0017>
31. Amrit FRG, Ratnappan R, Keith SA, Ghazi A. The *C. elegans* lifespan assay toolkit. *Methods*. 2014;68(3):465–475. <https://doi.org/10.1016/j.ymeth.2014.04.002>
32. Nigon VM, Félix M-A. History of research on *C. elegans* and other free-living nematodes as model organisms. *WormBook*. 2017. pp. 1–84. <https://doi.org/10.1895/wormbook.1.181.1>
33. Vesnina AD, Dolganyuk VF, Dmitrieva AI, Loseva AI, Milentyeva IS. Evaluation of the geroprotective effect of squalene on the *Caenorhabditis elegans* model. *Siberian Journal of Life Sciences and Agriculture*. 2022;14(6):51–69. (In Russ.). <https://doi.org/10.12731/2658-6649-2022-14-6-51-69>
34. Shen P, Yue Y, Zheng Jo, Park Y. *Caenorhabditis elegans*: A convenient in vivo model for assessing the impact of food bioactive compounds on obesity, aging, and Alzheimer's disease. *Annual Review of Food Science and Technology*. 2018;9:1–22. <https://doi.org/10.1146/annurev-food-030117-012709>
35. Krishnan N, Konidaris KF, Gasser G, Tonks NK. A potent, selective, and orally bioavailable inhibitor of the protein-tyrosine phosphatase PTP1B improves insulin and leptin signaling in animal models. *Journal of Biological Chemistry*. 2018;293(5):1517–1525. <https://doi.org/10.1074/jbc.C117.819110>
36. Zhu Z, Yang T, Zhang L, Liu L, Yin E, Zhang C, et al. Inhibiting A β toxicity in Alzheimer's disease by a pyridine amine derivative. *European Journal of Medicinal Chemistry*. 2019;168:330–339. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2019.02.052>
37. Limbocker R, Chia S, Ruggeri FS, Perni M, Cascella R, Heller GT, et al. Trodusquemine enhances A β ₄₂ aggregation but suppresses its toxicity by displacing oligomers from cell membranes. *Nature Communications*. 2019;10. <https://doi.org/10.1038/s41467-018-07699-5>
38. Kato M, Chen X, Inukai S, Zhao H, Slack FJ. Age-associated changes in expression of small, noncoding RNAs, including microRNAs, in *C. elegans*. *RNA*. 2011;17:1804–1820. <https://doi.org/10.1261/rna.2714411>
39. Rangaraju S, Solis GM, Thompson RC, Gomez-Amaro RL, Kurian L, Encalada SE, et al. Suppression of transcriptional drift extends *C. elegans* lifespan by postponing the onset of mortality. *eLife*. 2015;4. <https://doi.org/10.7554/eLife.08833.001>
40. Gu J, Li Q, Liu J, Ye Z, Feng T, Wang G, et al. Ultrasonic-assisted extraction of polysaccharides from *Auricularia auricula* and effects of its acid hydrolysate on the biological function of *Caenorhabditis elegans*. *International Journal of Biological Macromolecules*. 2021;167:423–433. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.11.160>
41. Karpushina MV, Suprun II, Lobodina EV. Application of biotechnological methods in the nursery industry. *Fruit Growing and Viticulture of South Russia*. 2021;(71):116–130. (In Russ.). <https://doi.org/10.30679/2219-5335-2021-5-71-116-130>
42. Dyshlyuk LS, Fedorova AM, Loseva AI, Ereemeeva NI. Callus cultures of *Thymus vulgaris* and *Trifolium pratense* as a source of geroprotectors. *Food Processing: Techniques and Technology*. 2021;51(2):423–432. <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2021-2-423-432>
43. Gamborg OL, Miller RA, Ojima O. Nutrient requirements of suspension cultures of soybean root cells. *Experimental Cell Research*. 1968;50(1):151–158. [https://doi.org/10.1016/0014-4827\(68\)90403-5](https://doi.org/10.1016/0014-4827(68)90403-5)
44. Faskhutdinova ER, Sukhikh AS, Le VM, Minina VI, Khelef MEA, Loseva AI. Effects of bioactive substances isolated from Siberian medicinal plants on the lifespan of *Caenorhabditis elegans*. *Foods and Raw Materials*. 2022;10(2):340–352. <https://doi.org/10.21603/2308-4057-2022-2-544>
45. Malca-Garcia GR, Liu Y, Nikolić D, Friesen JB, Lankin DC, McAlpine JB, et al. Investigation of red clover (*Trifolium pratense*) isoflavonoid residual complexity by off-line CCS-qHNMR. *Fitoterapia*. 2022;156. <https://doi.org/10.1016/j.fitote.2021.105016>
46. Drake J, Link CD, Butterfield DA. Oxidative stress precedes fibrillar deposition of Alzheimer's disease amyloid beta-peptide (1-42) in a transgenic *Caenorhabditis elegans* model. *Neurobiology of Aging*. 2003;24(3):415–420. [https://doi.org/10.1016/S0197-4580\(02\)00225-7](https://doi.org/10.1016/S0197-4580(02)00225-7)
47. Dostal V, Link CD. Assaying β -amyloid toxicity using a transgenic *C. elegans* model. *Journal of Visualized Experiment*. 2010;44. <https://doi.org/10.3791/2252>
48. Fedorova AM, Dyshlyuk LS, Milentyeva IS, Loseva AI, Neverova OA, Khelef MEA. Geroprotective activity of trans-cinnamic acid isolated from the Baikal skullcap (*Scutellaria baicalensis*). *Food Processing: Techniques and Technology*. 2022;52(3):582–591. (In Russ.). <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2022-3-2388>
49. Sonani RR, Singh NK, Awasthi A, Prasad B, Kumar J, Madamwar D. Phycoerythrin extends life span and health span of *Caenorhabditis elegans*. *AGE*. 2014;36. <https://doi.org/10.1007/s11357-014-9717-1>

50. Leite NR, de Araújo LCA, da Rocha PS, Agarrayua DA, Ávila DS, Carollo CA, *et al.* Baru Pulp (*Dipteryx alata* Vogel): Fruit from the Brazilian savanna protects against oxidative stress and increases the life expectancy of *Caenorhabditis elegans* via SOD-3 and DAF-16. *Biomolecules*. 2020;10(8). <https://doi.org/10.3390/biom10081106>
51. Livak KJ, Schmittgen TD. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the $2^{-\Delta\Delta C_T}$ method. *Methods*. 2001;25(4):402–408. <https://doi.org/10.1006/meth.2001.1262>
52. Dimitriadi TA, Burtsev DV, Dzhenkova EA, Kutilin DS. Differential expression of microRNAs and their target genes in cervical intraepithelial neoplasias of varying severity. *Advances in Molecular Oncology*. 2020;7(2):47–61. (In Russ.). <https://doi.org/10.17650/2313-805X-2020-7-2-47-61>
53. Martorell P, Llopis S, Gonzalez N, Ramón D, Serrano G, Torrens A, *et al.* A nutritional supplement containing lactoferrin stimulates the immune system, extends lifespan, and reduces amyloid β peptide toxicity in *Caenorhabditis elegans*. *Food Science and Nutrition*. 2016;5(2):255–265. <https://doi.org/10.1002/fsn3.388>
54. Qin Y, Chen F, Tang Z, Ren H, Wang Q, Shen N, *et al.* *Ligusticum chuanxiong* Hort as a medicinal and edible plant foods: Antioxidant, anti-aging and neuroprotective properties in *Caenorhabditis elegans*. *Frontiers in Pharmacology*. 2022;13. <https://doi.org/10.3389/fphar.2022.1049890>
55. Gutierrez-Zetina SM, González-Manzano S, Ayuda-Durán B, Santos-Buelga C, González-Paramás AM. Caffeic and dihydrocaffeic acids promote longevity and increase stress resistance in *Caenorhabditis elegans* by modulating expression of stress-related genes. *Molecules*. 2021;26(6). <https://doi.org/10.3390/molecules26061517>
56. Haridevamuthu B, Guru A, Murugan R, Sudhakaran G, Pachaiappan R, Almutairi MH, *et al.* Neuroprotective effect of Biochanin A against Bisphenol A-induced prenatal neurotoxicity in zebrafish by modulating oxidative stress and locomotory defects. *Neuroscience Letters*. 2022;790. <https://doi.org/10.1016/j.neulet.2022.136889>
57. Zhou Y, Xu B, Yu H, Zhao W, Song X, Liu Y, *et al.* Biochanin A attenuates ovariectomy-induced cognition deficit via antioxidant effects in female rats. *Frontiers in Pharmacology*. 2021;12. <https://doi.org/10.3389/fphar.2021.603316>
58. Singh L, Kaur N, Bhatti R. Neuroprotective potential of biochanin-A and review of the molecular mechanisms involved. *Molecular Biology Reports*. 2023;50:5369–5378. <https://doi.org/10.1007/s11033-023-08397-2>
59. Socała K, Szopa A, Serefko A, Poleszak E, Wlaż P. Neuroprotective effects of coffee bioactive compounds: A review. *International Journal of Molecular Sciences*. 2021;22(1). <https://doi.org/10.3390/ijms22010107>

<https://doi.org/10.21603/2074-9414-2023-4-2477>
<https://elibrary.ru/LZLDCQ>

Original article
Available online at <https://fptt.ru/en>

Tomato Pomace Ketchup: Physicochemical, Microbiological, and Sensory Characteristics



Stefanny Heriyanto^{ORCID}, Andreas Romulo^{ORCID}*

Bina Nusantara University^{ORCID}, Jakarta, Indonesia

Received: 26.02.2023

Revised: 22.07.2023

Accepted: 08.08.2023

*Andreas Romulo: andreas.romulo@binus.ac.id,

<https://orcid.org/0000-0002-1034-5817>

Stefanny Heriyanto: <https://orcid.org/0000-0002-1945-7321>

© S. Heriyanto, A. Romulo, 2023



Abstract.

Tomato (*Solanum lycopersicum* L.) is one of the most important crops that is extensively used in the food processing industry. During tomato processing, abundant by-products such as skins, pulps, seeds, and waste are generated and cause environmental burdens. To solve this problem, tomato pomace was subsequently used as a material for making tomato sauce. However, it is essential that the production of tomato ketchup meets the required standards. Therefore, it is important to analyze the physicochemical and sensory characteristics of the product. We aimed to study the effect of corn starch addition on the physicochemical and sensory properties of tomato ketchup made from tomato waste and to assess the acceptability of tomato sauce formulated with different concentrations of corn starch.

Tomato ketchup was cooked at 90°C for 15 min and then hot-filled into a sterile glass bottle. It was then analyzed for physical properties (color, viscosity, and total dissolved solids), chemical properties (pH, titratable acidity, moisture content), microbiological quality (total bacteria, mold, and yeast), and sensory acceptance.

The results showed that corn starch influenced the color characteristics of the tomato sauce. Adding more than 4% of corn starch increased the viscosity and total solids content significantly ($p < 0.05$). Also, corn starch addition decreased the water content and acidity, as well as increased the pH of the tomato sauce. Microbiological analysis showed no growth of bacteria, mold, or yeast in any of the test samples. According to sensory analysis, the tomato sauce with 1% of corn starch had the highest acceptance, while higher concentrations of corn starch decreased the texture acceptance.

Our findings may indicate that, with proper formulation, tomato by-products can be used as raw materials to develop sustainable alternative value-added products that consumers accept organoleptically. Further investigations can be conducted in the pilot-scale studies to enhance the feasibility of tomato pomace ketchup as a commercial product.

Keywords. *Solanum lycopersicum* L., corn starch, ketchup, tomato waste, quality, safety

For citation: Heriyanto S, Romulo A. Tomato Pomace Ketchup: Physicochemical, Microbiological, and Sensory Characteristics. Food Processing: Techniques and Technology. 2023;53(4):766–774. <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2023-4-2477>

Кетчуп из томатного жмыха: физико-химические, микробиологические и органолептические показатели



С. Хериянто^{ID}, А. Ромуло^{*ID}

Университет Бина Нусантара^{ROR}, Джакарта, Индонезия

Поступила в редакцию: 26.02.2023

Принята после рецензирования: 22.07.2023

Принята к публикации: 08.08.2023

*А. Ромуло: andreas.romulo@binus.ac.id,

<https://orcid.org/0000-0002-1034-5817>

С. Хериянто: <https://orcid.org/0000-0002-1945-7321>

© С. Хериянто, А. Ромуло, 2023



Аннотация.

Томаты (*Solanum lycopersicum* L.) являются важной сельскохозяйственной культурой. При переработке томатов образуются побочные продукты (кожица, мякоть, семена, отходы), которые выбрасываются производителями. Чтобы снизить потери, томатные выжимки используют для приготовления томатного кетчупа. Качество готового томатного кетчупа должно соответствовать требуемым стандартам, особенно физико-химическим и органолептическим характеристикам продукта. Цель работы – изучить влияние кукурузного крахмала на физико-химические, микробиологические и органолептические свойства томатного кетчупа, приготовленного из томатных отходов, и оценить потребительскую привлекательность готового продукта.

Кетчуп готовили из томатных выжимок. Для загущения соуса добавляли кукурузный крахмал в концентрациях 1, 4 и 7 %. Соус варили при температуре 90 °C в течение 15 мин и горячим разливали в стерильные стеклянные банки. Анализ физических (цвет, вязкость, общий сухой остаток), химических (pH, титруемая кислотность, содержание влаги), микробиологических (общее количество бактерий, плесени и дрожжей) и органолептических свойств проводили по общепринятым методикам.

Результаты исследования показали, что кукурузный крахмал влияет на цветовые характеристики томатного соуса. Добавление более 4 % кукурузного крахмала позволило повысить вязкость и общий сухой остаток ($p < 0,05$). Введение кукурузного крахмала в рецептуру позволило снизить количество воды и кислотность, а также повысило pH томатного соуса. Микробиологический анализ не выявил роста бактерий, плесени или дрожжей в тестируемых образцах. Томатный соус с 1 % кукурузного крахмала получил самую высокую оценку по органолептическим показателям. Более высокие концентрации кукурузного крахмала негативно влияли на консистенцию продукта.

Правильно подобранная рецептура позволяет использовать побочные продукты переработки томатов в качестве сырья для производства экологичных продуктов с добавленной стоимостью и хорошими органолептическими характеристиками. Однако для повышения эффективности производства кетчупа из томатных выжимок в промышленных условиях требуются дополнительные исследования.

Ключевые слова. *Solanum lycopersicum* L., кетчуп, томатные отходы, кукурузный крахмал, качество, безопасность

Для цитирования: Хериянто С., Ромуло А. Кетчуп из томатного жмыха: физико-химические, микробиологические и органолептические показатели // Техника и технология пищевых производств. 2023. Т. 53. № 4. С. 766–774. (На англ.). <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2023-4-2477>

Introduction

Tomato (*Solanum lycopersicum* L.) is one of the world's most economically important and widely cultivated crops [1, 2]. It is considered a multi-function ingredient and is frequently utilized to improve the flavor, color, and texture of various food products [3]. Tomatoes have been reported to have advantageous nutritional and health benefits due to their components such as vitamin C, carotenoids (mainly lycopene, lutein, and β -carotene), as well as phenolic compounds [4–6]. Previous studies have associated the consumption of

tomatoes with improving immune responses and reducing the risk of cardiovascular diseases and certain cancers [7–10]. Therefore, tomatoes and tomato-derived products are considered a good source of nutrients.

According to the Food and Agricultural Organization, approximately 200 million tons of tomatoes are produced annually worldwide [11]. Of the total production, around 75% is used for direct consumption, while the rest is utilized as an ingredient in processed tomato-based products [11, 12]. It is expected that 30% of fresh tomatoes will be wasted along the production chain.

Significant losses and waste are generated during harvest, fruit handling, and industrial processing [13]. In industrial processing, tomatoes are used to produce ready-to-eat products such as ketchup, paste, juice, and jams. It generates significant residues such as tomato peels and seeds [14, 15]. These tomato pomaces have been proven to contain abundant amounts of nutrients and phytochemicals [16, 17].

Indonesia produced around 1.1 million tomatoes in 2020, and the production level is expected to increase gradually in the next few years [18]. The gradual rise in the production and consumption of tomatoes also increases waste generation. Therefore, the recycling of tomato waste is currently the leading solution among the top environmental stakes. The valorization of the product through developing a sustainable product is greatly encouraged, and tomato sauce can be one of such products [19]. To the best of our knowledge, there has never been a product produced from tomato waste and sold in Indonesia.

Among tomato-based products, tomato sauce or tomato ketchup is one of the most widely consumed food products in the world, and its production requires simple unit operations [20]. Some previous studies have shown the success of using tomato pomace as raw material for making tomato sauce [20, 21]. Tomato pomace is prone to microbial deterioration due to its high water content (approximately 80–90%); therefore, the processing must be conducted as soon as possible [22]. Moreover, this high water content could lead to a significantly diluted sauce [23]. Therefore, it is crucial to add a thickening agent to improve the rheological and sensory properties of the product, such as corn starch [24]. Corn starch has been widely used in food industries as an affordable thickener and a preferable choice due to its high thickening capacity, swelling properties, and paste clarity [25]. The addition of corn starch has been reported to have pasting properties comparable with other starches, which can prevent the separation of tomato ketchup serum and aggregation of solid particles during storage [26, 27]. The tendency of people to consume natural products has boosted the use of native corn starch and given rise to research on the use of native starch in food applications. Tomato ketchup is generally produced from tomato paste. We, however, used tomato pomace as a sole base for tomato ketchup. The amount of corn starch added to the formulation is crucial for the body texture and other characteristics of the product. Thus, we aimed to study the effect of corn starch on the physicochemical properties of tomato sauce and to assess the acceptability of tomato sauce formulated with different concentrations of corn starch.

Study objects and methods

In this study, we used tomato waste (FoodCycle, Indonesia), native cornstarch (Maizenaku, Indonesia), and other ingredients for making tomato sauce. The

chemicals used for the experiment included sodium hydroxide (NaOH), phenolphthalein, phosphate buffer saline, ethanol 96%, tartaric acid, potato dextrose agar, and plate count agar (Merck, Germany).

Tomato sauce preparation. Tomato waste fraction was first collected. For this, around 500 g of tomato pomace was blanched at 90°C for 3 min and crushed using a blender for 5 min until forming a slurry pulp. The pulp was mixed with other ingredients (fixed percentage concentration, not mentioned) to make tomato sauce, except for corn starch used at different concentrations (Table 1). After the texture was thickened, the acidity of the tomato sauce was adjusted using the acidifying agent. The sauce was heated until the final total soluble solid was obtained. The ketchup was hot-filled into a sterile glass bottle and then heated at 90°C for 15 min. No other tomato products (such as paste) were added to the tomato ketchup.

Color analysis. The color of the tomato sauce was evaluated using a Chromameter NH310 (Shenzhen, China) [28]. In this experiment, three color matrices were measured: pixel value of lightness L , pixel value of a (greenness to redness), and pixel value of b (blueness to yellowness). The L , a , b , and ΔE between the test samples and the control sauce were calculated using the following Eq. (1):

$$\Delta E = \sqrt{(\Delta L)^2 + (\Delta a)^2 + (\Delta b)^2} \quad (1)$$

Viscosity analysis. The viscosity analysis of the samples was carried out using a Brookfield DV-1 viscometer (Ametek Brookfield, USA) at room temperature [29]. The spindle RV-07 was immersed into the sample and stirred at 10, 50, and 100 rpm for 3 min. The data shown in the display of the viscometer was then recorded.

Total dissolve solids analysis. The total dissolved solids of the tomato sauce were measured using a Brix refractometer [30]. The sample was homogenized and then centrifuged. The resulting clear liquid was then dropped onto the refractometer prism. The data shown in the refractometer was then recorded and expressed as °Brix.

pH and titratable acidity measurement. The acidity (pH) of the tomato sauce was measured using a pH meter following the procedures of the Association of Official Analytical Chemists [30]. pH meter was

Table 1. Corn starch concentrations in tomato sauce

Таблица 1. Концентрация кукурузного крахмала в томатном соусе

Formula	Corn starch, %
1	0
2	1
3	4
4	7

calibrated with a standard buffer solution of pH 4.0, 7.0, and 10.0 before being used.

The titratable acidity, %, of the tomato sauce was determined using the acid-base titration method [31]. The sample was diluted, filtered, mixed with 0.1% phenolphthalein, and titrated with 0.1 N NaOH solution. The percentage of acidity was calculated as acetic acid using the following Eq. (2):

$$TA = \frac{V \times N \times B \times FP}{W} \quad (2)$$

where V is the volume of 0.1 N NaOH solution used for titration, mL; N is the normality of NaOH solution (0.1 N); B is the equivalent weight of acetic acid (60.052 g/mol); FP is the dilution factor; W is the sample's weight, g.

Moisture content analysis. The moisture content, %, of the tomato sauce was determined by drying the sample in an oven at 105°C until a constant weight was achieved [32]. The water content was calculated using the following Eq. (3):

$$\text{Moisture content} = \frac{W_1}{W} \times 100 \quad (3)$$

where W is the sample's weight before drying, g; W_1 is weight loss after drying, g.

Total microbial analysis. The total microbial analysis of the tomato sauce was carried out using the pour plate method [33]. The sample was diluted up to 10^{-3} and cultured into Plate Count Agar (Merck, Germany). The colony was observed on each plate after 48 h of incubation at 37°C.

Enumeration of mold and yeast. The enumeration of mold and yeast in the tomato sauce was carried out using the spread plate method [34]. The sample was diluted up to 10^{-2} and cultured into Potato Dextrose Agar (Merck, Germany). The colony growth was recorded on each plate after 5 days of incubation at 25°C.

Sensory analysis. The sensory analysis of the tomato sauces was conducted using a hedonic rating test [35]. The analysis was performed in a sensory laboratory with separate spaces for the panelists. The tomato sauce parameters (color, aroma, taste, texture, and overall acceptance) were assessed using a 9-scale hedonic

rating test (1 = dislike extremely, 2 = dislike very much, 3 = dislike moderately, 4 = dislike slightly, 5 = neither like or dislike, 6 = like slightly, 7 = like moderately, 8 = like very much, 9 = like extremely).

Statistical analysis. The data were statistically analyzed using the IBM SPSS Statistics 25.0 software. The One-Way ANOVA and HSD Tukey's at 95% confidence interval ($p < 0.05$) were used to analyze the differences in physicochemical and sensory properties of the tomato sauce.

Results and discussion

The production of tomato sauce from tomato waste is one of the solutions to valorize tomato waste from industrial processing. The formulation of tomato sauce with corn starch was intended to obtain the best formula with high acceptability in terms of physicochemical and sensory characteristics.

Effect of corn starch on the color of tomato sauce.

Color properties are the most essential physical characteristics in the acceptability of tomato sauce. The CIE L^* , a^* , b^* color model was used to measure the color of the tomato sauces with different concentrations of corn starch (Table 2).

We found that the addition of corn starch changed the color of the tomato sauce. Particularly, adding up to 7% of corn starch changed the L^* , a^* , b^* , and ΔE values significantly ($p < 0.05$), compared to the control. Corn starch has a pure white color and produces a transparent gel. The higher the concentration of corn starch, the more transparent starch crystals and the higher the brightness level of the tomato source [36]. All the samples also had positive a^* and b^* values, which means the colors tended to be red and yellow. The main component responsible for the tomato's red and yellow colors is the natural content of carotenoid pigments. The amount of carotenoid pigments depends on the variety, fruit maturity level, and environmental conditions where the fruit ripens [37]. The value of total color differences (ΔE) can be classified as very obvious ($\Delta E > 3$), obvious ($1.5 < \Delta E < 3$), and not noticeable ($\Delta E < 1.5$) [38]. According to Table 2, corn starch affected the samples' color significantly. In particular, adding 7% of corn starch resulted in very

Table 2. Instrumental color parameters L^* , a^* , b^* , and ΔE of tomato sauce with different corn starch concentrations

Таблица 2. Показатели цвета томатного соуса L^* , a^* , b^* и ΔE : образцы с разной концентрацией кукурузного крахмала

Formula	L^*	a^*	b^*	ΔE
1	34.52 ± 0.52^a	14.27 ± 0.54^a	8.08 ± 0.72^a	0^a
2	35.42 ± 0.26^b	15.59 ± 0.58^b	9.80 ± 0.32^b	2.48 ± 0.68^b
3	36.55 ± 0.85^c	14.61 ± 0.46^a	9.51 ± 1.04^b	2.81 ± 0.82^b
4	37.61 ± 0.25^d	16.00 ± 0.50^b	11.51 ± 0.48^c	5.00 ± 0.58^c

Values are expressed as mean $\pm$ SD. The numbers followed by different letters in the column are statistically different ($p < 0.05$).

Значения выражаются как среднее $\pm$ стандартное отклонение. Цифры, за которыми следуют разные буквы в столбце, статистически различаются ($p < 0,05$).

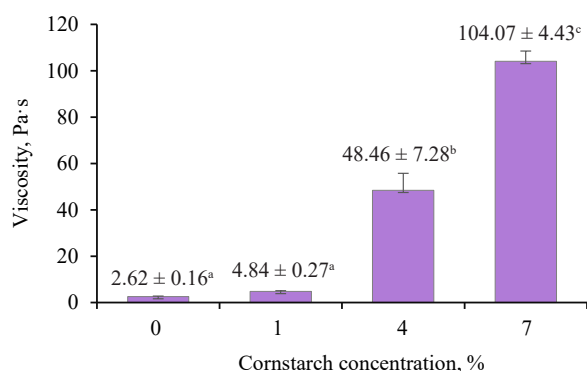


Figure 1. Effect of corn starch on the viscosity of tomato sauces

Рисунок 1. Влияние кукурузного крахмала на вязкость томатного соуса

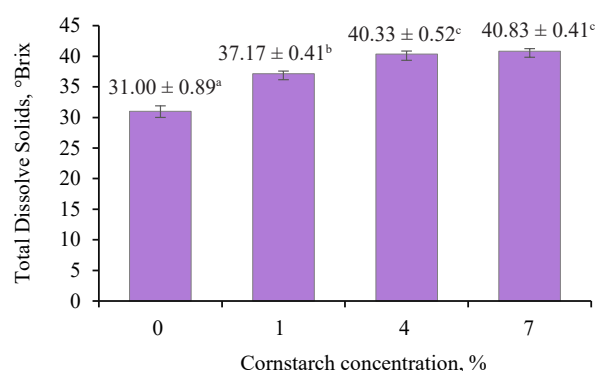


Figure 2. Effect of corn starch on total dissolved solids of tomato sauces

Рисунок 2. Влияние кукурузного крахмала на общий сухой остаток в томатном соусе

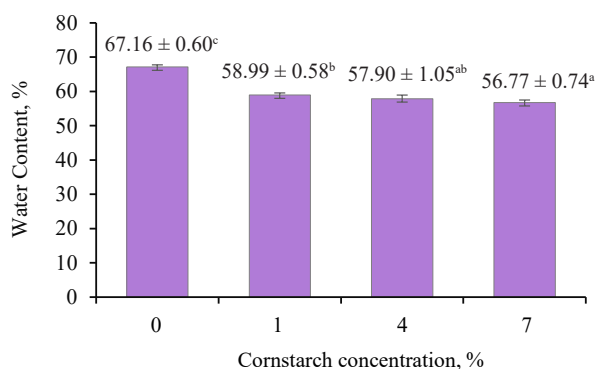


Figure 3. Effect of corn starch on moisture content of tomato sauces

Рисунок 3. Влияние кукурузного крахмала на содержание влаги в томатном соусе

obvious color differences, while 4% of corn starch produced obvious color changes.

Effect of corn starch on viscosity and total dissolved solids of tomato sauce. The viscosity of the tomato sauces manufactured with different corn starch concentrations is shown in Fig. 1. According to the results, the addition of corn starch increased the viscosity of the tomato sauce significantly ($p \leq 0.05$). In particular, adding 7% of corn starch resulted in the highest viscosity of the tomato sauce (104.07 Pa·s), compared to the control. During the heat treatment process in the production of tomato sauce, corn starch undergoes gelatinization and swelling, increasing the sauce's viscosity [23]. Due to water absorption during gelatinization, the prevention of syneresis and stable texture in tomato sauce could be achieved [39].

The increased viscosity of the tomato sauce may also be affected by the content of total dissolved solids (Fig. 2).

Our results showed that the addition of corn starch increased total dissolved solids significantly ($p < 0.05$).

In particular, adding up to 4% of corn starch increased the total solids content to 31.00–40.33°Brix. However, higher concentrations corn starch did not improve the total solids content in the tomato sauce. This is one of the critical quality parameters in tomato sauce production. The higher the content of total dissolved solids in the tomato sauce, the better its quality and consistency [40]. According to the Indonesian national standard for the production of tomato sauce, good quality tomato sauce must have at least 30°Brix (SNI 01-3546-2004). All the samples tested in our study met this requirement.

Effect of corn starch on moisture content, pH, and acidity of tomato sauce. Figure 3 shows the results of moisture content analysis. Significant differences were observed in all the tomato sauces with corn starch compared to the control. The lowest moisture content was detected in the tomato sauce formulated with 7% of corn starch (56.77%). Our data were in line with those in the previous research where higher concentrations of corn starch in tomato sauce lowered its water content [41]. On the other hand, our results were opposite to those in a study by K. Alam *et al.* who stated that adding a thickening agent could increase the water content [42]. The disparity between the data in the previous research and our results could probably be due to the type of thickening agent used and its water-binding ability.

As can be seen from Fig. 4, the addition of corn starch influenced the pH of the tomato sauces. In particular, their pH values ranged from 3.47 to 3.57. A slight increase in pH was observed in the tomato sauce formulated with more than 1% of corn starch. The pH values in our study met the pH requirements for tomato sauce (pH 3–4) (SNI 01-3546-2004). Our results were consistent with those in a previous study, where pH ranged between 3.40 and 3.84 [42]. The pH values were mainly influenced by the number of acids contained in the samples. The titratable acidity (Fig. 5) of the tomato sauces ranged from 3.57 to 3.73%. The addition

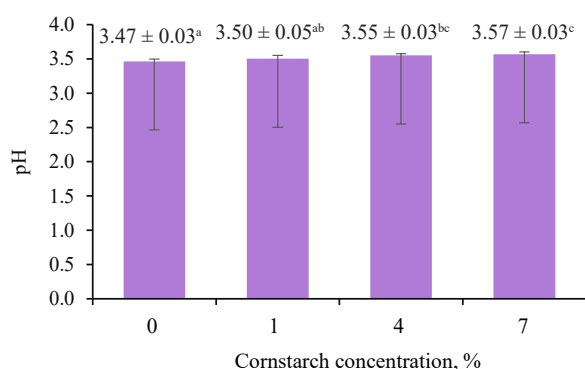


Figure 4. Effect of corn starch on pH values of tomato sauce

Рисунок 4. Влияние кукурузного крахмала на значения pH томатного соуса

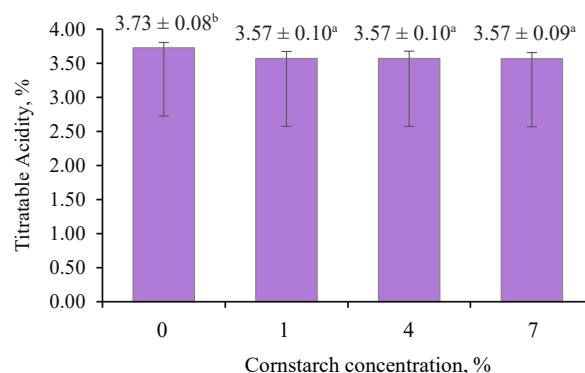


Figure 5. Effect of corn starch on titratable acidity of tomato sauce

Рисунок 5. Влияние кукурузного крахмала на титруемую кислотность томатного соуса

Table 3. Microbial analysis of tomato sauce

Таблица 3. Микробный анализ томатного соуса

Formula	Total microbes, CFU/g	Mold and yeast, CFU/g
1	$< 2.5 \times 10^2$ (0)	$< 1.0 \times 10^2$ (0)
2	$< 2.5 \times 10^2$ (0)	$< 1.0 \times 10^2$ (0)
3	$< 2.5 \times 10^2$ (0)	$< 1.0 \times 10^2$ (0)
4	$< 2.5 \times 10^2$ (0)	$< 1.0 \times 10^2$ (0)

Table 4. Tomato sauce acceptance by hedonic rating

Таблица 4. Потребительская привлекательность томатного соуса по гедонистической шкале

Formula	Color	Aroma	Flavor	Texture	Overall
1	5.95 ± 1.62^{ab}	4.65 ± 2.02^a	5.08 ± 1.83^a	5.70 ± 1.47^{bc}	5.10 ± 1.55^a
2	6.90 ± 1.28^c	6.18 ± 1.60^b	6.43 ± 1.55^b	6.45 ± 1.48^c	6.50 ± 1.50^b
3	6.60 ± 1.26^{bc}	5.78 ± 1.46^b	5.90 ± 1.61^{ab}	5.33 ± 1.86^b	5.70 ± 1.49^{ab}
4	5.70 ± 1.77^a	5.60 ± 1.60^{ab}	5.50 ± 1.84^{ab}	4.18 ± 2.23^a	5.03 ± 1.86^a

Values are expressed as mean $\pm$ SD. The numbers followed by different letters in the column are statistically different ($p < 0.05$).Значения выражаются как среднее $\pm$ стандартное отклонение. Цифры, за которыми следуют разные буквы в столбце, статистически различаются ($p < 0,05$).

of corn starch reduced the acidity of the tomato sauce ($p < 0.05$). The titratable acidity values in our study were in line with the Indonesian national standard, which requires a minimum of 0.8% acidity in tomato sauce (SNI 01-3546-2004).

Microbiology analysis of tomato sauces. The results of the microbiological tests are shown in Table 3. As can be seen, none of the samples was found to be contaminated by microorganisms. Furthermore, the counts were lower than the maximum standard, which is 2×10^2 CFU/g for total microorganisms and 5×10^1 CFU/g for molds and yeasts (SNI 01-3546-2004). The results confirmed that the tomato sauces were produced in accordance with good manufacturing practices for producing processed foods. In particular, the tomato sauces were produced promptly after the receipt

of tomato waste, which prevented its decomposition and minimized the proliferation of microorganisms [43]. In addition, the low bacterial and mold yeast counts in our study could be related to the low pH of the tomato sauces and the heat treatment process during tomato sauce production [44].

Sensory analysis of tomato sauces. The results of the sensory analysis are shown in Table 4. The addition of corn starch showed the variation in sensory attributes acceptance. The panelists preferred the tomato sauce with 1% of corn starch in terms of color, aroma, flavor, texture, and overall acceptance. The statistical results showed a significant difference between the 1% corn starch sample and the control ($p < 0.05$). Among the test samples, adding more than 1% of corn starch showed no differences in color, aroma, or flavor but

tended to decrease the texture acceptance. This decrease is probably due to the capability of corn starch to weaken the distinctive aroma and flavor of tomato sauce [23]. A similar result was observed in the study by Singh *et al.*, where the tomato sauce with a higher concentration of thickening agent tended to have a lower sensory score on aroma and flavor [45]. Besides, higher concentrations of corn starch reduced the acceptance of color in the tomato sauce. As for overall acceptance, adding more than 1% of corn starch did not cause a significant difference compared to the control ($p > 0.05$). These results showed the potency of tomato waste in Indonesia to be utilized into acceptable products through proper formulation.

Conclusion

To sum up, our study provided information on the effect of corn starch formulation on the physicochemical and sensory properties of the tomato ketchup made from tomato waste. According to our results, adding corn starch in certain concentrations can affect the physical characteristics of the tomato sauce. In particular, the addition of corn starch reduced the acidity and increased the pH of the tomato sauce. All the test samples were free from bacterial ($< 2.5 \times 10^2$ CFU/g) or mold and yeast (1.0×10^2 CFU/g) contaminations. The sensory analysis showed that the tomato sauce formulated with 1% of corn starch had the highest acceptance by the panelists. Our results indicate that with proper formulation, tomato waste can be employed as raw material to develop an organoleptically acceptable and sustainable value-added product in Indonesia. To increase the feasibility of tomato

pomace ketchup as a commercial product, additional research should be undertaken in the pilot-scale trials.

Contribution

S. Heriyanto conceptualized the research, collected and analyzed the data, and wrote the manuscript. A. Romulo designed the study, supervised the research, as well as wrote, edited, and submitted the manuscript.

Conflict of interests

The authors declare no conflict of interests regarding the publication of this article.

Acknowledgments

The authors would like to thank FoodCycle, Indonesia, for providing the raw materials for this research.

Критерии авторства

С. Хериянто: концепция исследования, получение и анализ экспериментальных данных, написание текста статьи. А. Ромуло: план исследования, научное руководство, написание текста статьи и его редактирование.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов в связи с публикацией данной статьи.

Благодарности

Авторы выражают благодарность некоммерческой организации «FoodCycle» (Индонезия) за предоставление сырья.

References

1. Kumar M, Tomar M, Bhuyan DJ, Punia S, Grasso S, Sá AGA, *et al.* Tomato (*Solanum lycopersicum* L.) seed: A review on bioactives and biomedical activities. Biomedicine and Pharmacotherapy. 2021;142. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2021.112018>
2. Liu W, Liu K, Chen D, Zhang Z, Li B, El-Mogy MM, *et al.* *Solanum lycopersicum*, a model plant for the studies in developmental biology, stress biology and food science. Foods. 2022;11(16). <https://doi.org/10.3390/foods11162402>
3. Bot F, Calligaris S, Cortella G, Nocera F, Peressini D, Anese M. Effect of high pressure homogenization and high power ultrasound on some physical properties of tomato juices with different concentration levels. Journal of Food Engineering. 2017;213:10–17. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2017.04.027>
4. Dai T, McClements DJ, Niu X, Guo X, Sun J, He X, *et al.* Whole tomato juice produced by a novel industrial-scale microfluidizer: Effect on physical properties and *in vitro* lycopene bioaccessibility. Food Research International. 2022; 159. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2022.111608>
5. Khan UM, Sevindik M, Zarrabi A, Nami M, Ozdemir B, Kaplan DN, *et al.* Lycopene: Food sources, biological activities, and human health benefits. Oxidative Medicine and Cellular Longevity. 2021;2021. <https://doi.org/10.1155/2021/2713511>
6. Li N, Wu X, Zhuang W, Xia L, Chen Y, Wu C, *et al.* Tomato and lycopene and multiple health outcomes: Umbrella review. Food Chemistry. 2021;343. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.128396>
7. Zhang W, Yu Y, Xie F, Gu X, Wu J, Wang Z. High pressure homogenization versus ultrasound treatment of tomato juice: Effects on stability and *in vitro* bioaccessibility of carotenoids. LWT. 2019;116. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2019.108597>
8. Mannino F, Pallio G, Altavilla D, Squadrito F, Vermiglio G, Bitto A, *et al.* Atherosclerosis plaque reduction by lycopene is mediated by increased energy expenditure through AMPK and PPAR α in ApoE KO mice fed with a high fat diet. Biomolecules. 2022;12(7). <https://doi.org/10.3390/biom12070973>

9. Cámara M, Fernández-Ruiz V, Sánchez-Mata M-C, Cámara RM, Domínguez L, Sesso HD. Scientific evidence of the beneficial effects of tomato products on cardiovascular disease and platelet aggregation. *Frontier in Nutrition*. 2022;9. <https://doi.org/10.3389/fnut.2022.849841>
10. Puah B-P, Jalil J, Attiq A, Kamisah Y. New insights into molecular mechanism behind anti-cancer activities of lycopene. *Molecules*. 2021;26(13). <https://doi.org/10.3390/molecules26133888>
11. Méndez-Carmona JY, Ascacio-Valdes JA, Alvarez-Perez OB, Hernández-Almanza AY, Ramírez-Guzman N, Sepúlveda L, *et al.* Tomato waste as a bioresource for lycopene extraction using emerging technologies. *Food Bioscience*. 2022;49. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2022.101966>
12. Trombino S, Cassano R, Procopio D, Di Gioia ML, Barone E. Valorization of tomato waste as a source of carotenoids. *Molecules*. 2021;26(16). <https://doi.org/10.3390/molecules26165062>
13. Sibomana MS, Workneh TS, Audain K. A review of postharvest handling and losses in the fresh tomato supply chain: A focus on Sub-Saharan Africa. *Food Security*. 2016;8:389–404. <https://doi.org/10.1007/s12571-016-0562-1>
14. Santiago-Ramos R, Silva CLM, Ramos IN. Modelling and optimization of the processing of a healthy snack bar made of grape and tomato pomaces. *Foods*. 2022;11(17). <https://doi.org/10.3390/foods11172676>
15. Solaberrieta I, Mellinas AC, Espagnol J, Hamzaoui M, Jiménez A, Garrigós MC. Valorization of tomato seed by-products as a source of fatty acids and bioactive compounds by using advanced extraction techniques. *Foods*. 2022;11(16). <https://doi.org/10.3390/foods11162408>
16. Oboulbiga EB, Parkouda C, Savadogo B, Guissou AWDB, Traore K, Traore AS, *et al.* Changes in physicochemical properties and bioactive compounds of tomato pulp submitted to different processing techniques. *African Journal of Food Science*. 2020;14(10):330–335. <https://doi.org/10.5897/AJFS2020.1998>
17. Silva YPA, Borba BC, Pereira VA, Reis MG, Caliar M, Brooks MS-L, *et al.* Characterization of tomato processing by-product for use as a potential functional food ingredient: Nutritional composition, antioxidant activity and bioactive compounds. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*. 2019;70(2):150–160. <https://doi.org/10.1080/09637486.2018.1489530>
18. Crops and livestock products [Internet]. [cited 2023 Jan 10]. Available from: <https://www.fao.org/faostat/en/#data/QCL>
19. Laranjeira T, Costa A, Faria-Silva C, Ribeiro D, de Oliveira JMPF, Simões S, *et al.* Sustainable valorization of tomato by-products to obtain bioactive compounds: Their potential in inflammation and cancer management. *Molecules*. 2022;27(5). <https://doi.org/10.3390/molecules27051701>
20. Torbica A, Belović M, Mastilović J, Kevrešan Ž, Pestorić M, Škrobot D, *et al.* Nutritional, rheological, and sensory evaluation of tomato ketchup with increased content of natural fibres made from fresh tomato pomace. *Food and Bioprocess Technology*. 2016;98:299–309. <https://doi.org/10.1016/j.fbp.2016.02.007>
21. Belović M, Torbica A, Pajić-Lijaković I, Tomić J, Lončarević I, Petrović J. Tomato pomace powder as a raw material for ketchup production. *Food Bioscience*. 2018;26:193–199. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2018.10.013>
22. Al-Muhtaseb AH, Al-Harashsheh M, Hararah M, Magee TRA. Drying characteristics and quality change of unutilized-protein rich-tomato pomace with and without osmotic pre-treatment. *Industrial Crops and Products*. 2010;31(1):171–177. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2009.10.002>
23. Herlina H, Lindriati T, Prahastynar P. The use of crude extract water soluble polysaccharide from durian (*Durio zibethinus* Muur.) seeds in tomato sauce processing. *agriTECH*. 2016;36(3):286–293. (In Indonesian). <https://doi.org/10.22146/agritech.16597>
24. Himashree P, Sengar AS, Sunil CK. Food thickening agents: Sources, chemistry, properties and applications – A review. *International Journal of Gastronomy and Food Science*. 2022;27. <https://doi.org/10.1016/j.ijgfs.2022.100468>
25. Ali TM, Hasnain A. Physicochemical, morphological, thermal, pasting, and textural properties of starch acetates. *Food Reviews International*. 2016;32(2):161–180. <https://doi.org/10.1080/87559129.2015.1057842>
26. Siti N, Misra S, Baruah D, Badwaik LS, Deka SC. Physicochemical properties of taro and maize starch and their effect on texture, colour and sensory quality of tomato ketchup. *Starch – Stärke*. 2014;66(3–4):294–302. <https://doi.org/10.1002/star.201300120>
27. Dzhivoderova-Zarcheva M, Nikovska K, Dimova K. Rheological and structural properties of tomato ketchup as affected by the addition of native and modified starches. *Bulgarian Journal of Agricultural Science*. 2021;27(1):220–226.
28. Pathare PB, Opara UL, Al-Said FA-J. Colour measurement and analysis in fresh and processed foods: A review. *Food and Bioprocess Technology*. 2013;6:36–60. <https://doi.org/10.1007/s11947-012-0867-9>
29. Vigneshwaran G, More PR, Arya SS. Non-thermal hydrodynamic cavitation processing of tomato juice for physicochemical, bioactive, and enzyme stability: Effect of process conditions, kinetics, and shelf-life extension. *Current Research in Food Science*. 2022;5:313–324. <https://doi.org/10.1016/j.crfs.2022.01.025>
30. Sridhar K, Makroo HA, Srivastava B. Effect of cold- and hot-break heat treatments on the physicochemical characteristics of currant tomato (*Solanum pimpinellifolium*) pulp and paste. *Foods*. 2022;11(12). <https://doi.org/10.3390/foods11121730>

31. Tigist M, Workneh TS, Woldetsadik K. Effects of variety on the quality of tomato stored under ambient conditions. *Journal of Food Science and Technology*. 2013;50(3):477–486. <https://doi.org/10.1007/s13197-011-0378-0>
32. Rosalinda RAN, Suryati, Masrulita, Sylvia N, Meriatna. Utilization of star fruit (*Averhoa blimbi* L.) as a preservative in making chili sauce. *Chemical Engineering Journal Storage*. 2021;1(2):24–34. (In Indonesian). <https://doi.org/10.29103/cejs.v1i2.5054>
33. Tournas V, Stack ME, Mislivec PB, Koch HA, Bandler R. Yeasts, molds, and mycotoxins [Internet]. [cited 2023 Jan 15]. Available from: <https://www.fda.gov/food/laboratory-methods-food/bam-chapter-18-yeasts-molds-and-mycotoxins>
34. Maturin L, Peeler JT. Aerobic plate count [Internet]. [cited 2023 Jan 15]. Available from: <https://www.fda.gov/food/laboratory-methods-food/bam-chapter-3-aerobic-plate-count>
35. Meilgaard MC, Civille GV, Carr BT. Sensory evaluation techniques, 5th Ed. Boca Raton: CRC Press; 2006. 630 p. <https://doi.org/10.1201/b19493>
36. Asasia PAA, Yuwono SS. Effect of corn starch and citric acid concentration level on physico-chemical and organoleptic properties of rose jam. *Jurnal Pangan dan Agroindustri*. 2018;6(1):64–74. (In Indonesian). <https://doi.org/10.21776/ub.jpa.2018.006.01.8>
37. Yahia EM, Brecht JK. Tomatoes. In: Rees D, Farrell G, Orchard J, editors. Crop post-harvest: Science and technology: Perishables. Blackwell Publishing; 2012. pp. 5–23. <https://doi.org/10.1002/9781444354652.ch2>
38. Hussain N, Weng CH, Munawar N. Effects of different concentrations of pineapple core extract and maceration process on free-range chicken meat quality. *Italian Journal of Food Science*. 2022;34(1):124–131. <https://doi.org/10.15586/ijfs.v34i1.2086>
39. de Castro DS, dos Santos Moreira I, de Sousa FC, da Silva WP, Gomes JP, de Melo Queiroz AJ, et al. Physical, chemical and rheological properties of pitomba (*Talisia esculenta*) seed starch and its application as a thickener and stabilizer in ketchup. *Australian Journal of Crop Science*. 2021;15(6):842–849. <https://doi.org/10.21475/ajcs.21.15.06.p2981>
40. Sharoba AM, Senge B, El-Mansy HA, Bahlol HE, Blochwitz R. Chemical, sensory and rheological properties of some commercial German and Egyptian tomato ketchups. *European Food Research and Technology*. 2005;220:142–151. <https://doi.org/10.1007/s00217-004-0981-7>
41. Pahruzi A, Ninsix R. Study of the addition of cornstarch as a thickening agent on the characteristics of moli banana sauce. *Jurnal Teknologi Pertanian*. 2016;5(1):8–14. (In Indonesian). <https://doi.org/10.32520/jtp.v5i1.85>
42. Khayrul Alam M, Ahmed M, Sorifa Akter M, Islam N, Eun J-B. Effect of carboxymethylcellulose and starch as thickening agents on the quality of tomato ketchup. *Pakistan Journal of Nutrition*. 2009;8(8):1144–1149. <https://doi.org/10.3923/pjn.2009.1144.1149>
43. Pour FH, Makkawi YT. A review of post-consumption food waste management and its potentials for biofuel production. *Energy Reports*. 2021;7:7759–7784. <https://doi.org/10.1016/j.egyr.2021.10.119>
44. Raits E, Pinte L, Kirse-Ozolins A, Muizniece-Brasava S. Effect of hot-fill processing at reduced temperatures on tomato sauce microbiological stability in plastic packaging. 20th International Scientific Conference Engineering for Rural Development; 2021; Jelgava. Jelgava: Latvia University of Life Sciences and Technologies; 2021. p. 1843–1849. <https://doi.org/10.22616/ERDev.2021.20.TF405>
45. Singh S, Singh AK, Rai A. Effect of different thickeners on quality assurance and consumer preferences in tomato ketchup. *Indian Journal of Agricultural Sciences*. 2014;84(8):1014–1017. <https://doi.org/10.56093/ijas.v84i8.43141>

<https://doi.org/10.21603/2074-9414-2023-4-2476>
<https://elibrary.ru/KRAFSI>

Оригинальная статья
<https://fptt.ru>

Биомедицинские исследования на лабораторных животных сыровяленого мяса птицы, обогащенного пергой пчелиной



М. А. Сухов^{1,*}, Т. М. Гиро², С. В. Козлов¹, И. В. Зирук¹

¹ Саратовский государственный университет генетики, биотехнологии и инженерии имени Н. И. Вавилова^{ROR}, Саратов, Россия

² Российский государственный аграрный университет – МСХА имени К. А. Тимирязева^{ROR}, Москва, Россия

Поступила в редакцию: 09.12.2022

Принята после рецензирования: 05.05.2023

Принята к публикации: 06.06.2023

*М. А. Сухов: maksim.suxow2012@yandex.ru,

<https://orcid.org/0000-0003-4999-749X>

Т. М. Гиро: <https://orcid.org/0000-0003-3039-1324>

С. В. Козлов: <https://orcid.org/0000-0003-2164-8140>

И. В. Зирук: <https://orcid.org/0000-0001-7300-3956>

© М. А. Сухов, Т. М. Гиро, С. В. Козлов, И. В. Зирук, 2023



Аннотация.

Применение натуральных пищевых добавок для обогащения мясных продуктов является перспективным направлением мясоперерабатывающей отрасли. Перга пчелиная обладает лечебно-профилактическими свойствами, т. к. в ее состав входят аминокислоты, углеводы, витамины, минеральные вещества, ферменты и т. д. Поэтому пергу пчелиную можно использовать в качестве обогатителя мясных сыровяленых продуктов категории джерки. Цель работы – оценить безопасность сыровяленого мясного изделия (джерки), обогащенного пергой пчелиной, при индуцированном тетрахлорметаном острым токсическом гепатите у крыс.

Объектами исследования являлись группы белых нелинейных крыс. Контрольная группа не подвергалась воздействию и находилась на общем рационе. У крыс опытной группы искусственно был вызван гепатит печени введением CC_{14} . На 2 сутки опытную группу разделили на 3 подгруппы: I опытная группа (общий рацион + джерки по стандартной рецептуре), II опытная группа (общий рацион + джерки с добавлением перги пчелиной), III опытная группа – положительный контроль K_{II} (общий рацион). Гематологические исследования выполнялись на анализаторе MicroCC20Vet, биохимические – на анализаторе StatFax 3300 с использованием диагностических систем фирмы «Диакон ДС», гистологические – по методике Г. А. Меркулова.

В ходе эксперимента мы отметили отсутствие изменений по гематологическим показателям; по биохимическим показателям отмечено достоверное увеличение содержания белка у крыс I и II опытных групп относительно интактных животных. По истечении 14-х суток концентрация белка и его фракций во II опытной группе повысилась до уровня интактных животных. Во II и III (K_{II}) опытных группах общий белок был достоверно выше за счет глобулиновой фракции. Это является следствием воспалительно-деструктивных процессов печени на фоне введения ксенобиотика. Отклонения по приросту живой массы и гистологическим исследованиям печени крыс не наблюдались.

Доклиническими исследованиями доказано, что перга пчелиная в составе рецептуры сыровяленых мясных изделий не оказывает негативного воздействия на организм лабораторных животных. В ходе эксперимента подтвердили антиоксидантную способность перги пчелиной.

Ключевые слова. Перга пчелиная, сыровяленые мясные изделия, лабораторные крысы, острый токсический гепатит, биохимические показатели крови, гематологические показатели крови

Финансирование. Работа выполнена на базе Саратовского государственного университета генетики, биотехнологии и инженерии имени Н. И. Вавилова (Вавиловский университет)^{ROR}.

Для цитирования: Биомедицинские исследования на лабораторных животных сыровяленого мяса птицы, обогащенного пергой пчелиной / М. А. Сухов [и др.] // Техника и технология пищевых производств. 2023. Т. 53. № 4. С. 775–785.
<https://doi.org/10.21603/2074-9414-2023-4-2476>

Raw Cured Poultry Meat Fortified with Bee Pollen: Biomedical Research on Laboratory Animals



Maksim A. Sukhov^{1,*}, Tatiana M. Giro²,
Sergey V. Kozlov¹, Irina V. Ziruk¹

¹ N.I. Vavilov Saratov State University of Genetics, Biotechnology and Engineering^{ROR}, Saratov, Russia

² Russian State Agrarian University – Moscow Timiryazev Agricultural Academy^{ROR}, Moscow, Russia

Received: 09.12.2022

Revised: 05.05.2023

Accepted: 06.06.2023

*Maksim A. Sukhov: maksim.suxow2012@yandex.ru,

<https://orcid.org/0000-0003-4999-749X>

Tatiana M. Giro: <https://orcid.org/0000-0003-3039-1324>

Sergey V. Kozlov: <https://orcid.org/0000-0003-2164-8140>

Irina V. Ziruk: <https://orcid.org/0000-0001-7300-3956>

© M.A. Sukhov, T.M. Giro, S.V. Kozlov, I.V. Ziruk, 2023



Abstract.

Natural food additives can fortify meat products. Bee pollen, also known as beebread or ambrosia, contains amino acids, carbohydrates, vitamins, minerals, enzymes, etc. As a result, it possesses numerous therapeutic and prophylactic properties. Bee pollen has good prospects as a fortifying agent for jerky meat, i.e., lean and dehydrated trimmed meat cut into strips. This study tested dry-cured jerky meat fortified with bee pollen on rats with carbon tetrachloride-induced acute toxic hepatitis.

The research featured white non-linear laboratory rats. The control group obtained a standard diet. The experimental rats were induced with liver hepatitis by administering CC_{14} . On day 2, the experimental group was divided into three subgroups: experimental group I (standard diet + traditional jerky), experimental group II (standard diet + jerky fortified with bee pollen), and experimental group III (standard diet), which served as positive control. The research involved a MicroCC20Vet analyzer for hematological tests and a StatFax 3300 analyzer with Diacon DS diagnostic systems for biochemical tests. The histological analyses relied on the method developed by G.A. Merkulov.

The hematological parameters demonstrated no changes. As for the biochemistry, experimental groups I and II developed a protein content increase. On day 14, the concentration of protein and its fractions in experimental group II reached the level of intact animals. In experimental groups II and III, the total protein was significantly higher due to the globulin fraction as a result of inflammatory and destructive processes in the liver. However, the rats had normal live weight gain, and their liver demonstrated no histological deviations.

In this preclinical study, bee pollen as part of jerky meat formulation had no negative effect on laboratory rats. Bee pollen also proved its antioxidant properties.

Keywords. Bee bread, dried meat products, laboratory rats, acute toxic hepatitis, biochemical blood parameters, hematological blood parameters

Funding. The research was performed on the premises of the N.I. Vavilov Saratov State University of Genetics, Biotechnology and Engineering (Vavilov University)^{ROR}.

For citation: Sukhov MA, Giro TM, Kozlov SV, Ziruk IV. Raw Cured Poultry Meat Fortified with Bee Pollen: Biomedical Research on Laboratory Animals. Food Processing: Techniques and Technology. 2023;53(4):775–785. (In Russ.). <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2023-4-2476>

Введение

Основным направлением Стратегии повышения качества пищевой продукции в Российской Федерации до 2030 г. является обеспечение полноценного питания с целью профилактики заболеваний, увеличения продолжительности и качества жизни населения. Данные направления должны стимулировать развитие производства соответствующей пищевой продукции [1].

Федеральная служба государственной статистики констатирует, что дисмикрозлементоз и полигиповитаминоз отмечаются у 22–38 % взрослого населения. Решением данной проблемы может стать производство мясных продуктов повышенной биологической ценности, в рецептуре которых используются биологически активные ингредиенты [2, 3]. Например, натуральный природный компонент перга пчелиная.

Перга является продуктом пчеловодства и представляет собой белково-углеводный корм, используемый для кормления расплода [4]. Ее получают из пыльцы растений, помещенной в соты и залитой медовым слоем. Состав перги включает аминокислоты, углеводы, витамины, минеральные вещества, ферменты, гормоны и т. д. [5]. Перга обладает лечебно-профилактическими свойствами: повышает иммунитет, улучшает кроветворение, тонус организма, работу головного мозга и сердечно-сосудистой системы; полезна при заболеваниях ЖКТ, печени, почек и щитовидной железы [6–9].

Использование перги в размере 2 % в качестве обогатителя мясных сыровяленых продуктов категории джерки позволяет осуществлять процесс производства практически без изменения технологического цикла [10, 11]. С целью сохранения активности ферментов, витаминов и гормонов в сыровяленых мясных продуктах предусмотрено проведение процесса вяления в диапазоне температур от 35 до 44 °C [12–14]. Данный продукт рекомендован для питания военнослужащих, туристов, спортсменов, лиц, которые попали в неблагоприятные условия, и т. д. [15]. Это связано с повышенной потребностью организма в белке, витаминах, минеральных веществах, ферментах и др. Сыровяленый мясной продукт отличается легким весом, длительным сроком хранения и высоким содержанием белка.

Цель исследования – оценить безопасность перги пчелиной в качестве обогатителя сыровяленых мясных изделий (джерки) при индуцированном тетрахлорметаном острым токсическом гепатите у крыс.

Объекты и методы исследования

Объектами исследования являлись группы белых нелинейных крыс: первая группа – контроль (К), животные не подвергались воздействию и находились на общем рационе; вторая группа – животные, у которых искусственно вызвали гепатит печени введением CCl_4 . Через 2-е суток данную группу разделили на 3 подгруппы:

- I опытная группа: животные получали общий рацион + джерки по стандартной рецептуре, 30 г в сутки;
- II опытная группа: животные получали общий рацион + джерки с добавлением перги пчелиной (2 %), 30 г в сутки;
- III опытная группа: положительный контроль ($K_{\text{п}}$), животные получали общий рацион.

Для изучения антиокислительного стресса использовался тетрахлорметан (CCl_4), который является одним из распространенных токсичных веществ для изучения окислительного стресса при экспериментальном моделировании.

Токсическое действие CCl_4 связано с прооксидантным действием образующихся в процессе его метаболизма свободных радикалов – трихлорметиль-

ного CCl_3 и высокореактивного трихлорметилпероксильного CCl_3OO . Взаимодействие образующихся радикалов CCl_4 с полиненасыщенными жирными кислотами фосфолипидов мембран инициирует перекисное окисление липидов с последующим развитием цепной реакции свободнорадикального окисления. Это приводит к нарушениям функциональных свойств мембран: подавлению активности мембраносвязанных ферментов, выходу цитозольных ферментов в кровь, апоптозу и некрозу гепатоцитов.

Индукцированный CCl_4 окислительный стресс усугубляется подавлением активности антиоксидантных ферментов, усилением расхода и снижением содержания в клетке таких антиоксидантов, как α -токоферол и восстановленная форма убихинона. В связи с этим CCl_4 -индуцированный окислительный стресс находит применение в качестве одной из немногих моделей для оценки *in vivo* антиоксидантных свойств биологически активных соединений, используемых как БАД к пище или как компоненты функциональной пищи [16].

Антиоксидантная способность перги пчелиной отмечена в работах отечественных и зарубежных ученых: Н. З. Хисматуллина, П. А. Красочко, Д. И. Шаврина, V. Aylanc, D. Barbieri, H. Ispirli, Z. Zakaria, Z. Li, S. A. Khalifa и др. [17–23].

Исследования проводили в виварии Вавиловского университета. Эксперименты выполнены согласно Правилам лабораторной практики в Российской Федерации (Приказ Министерства здравоохранения Российской Федерации от 18.05.2021, № 464н) и методическим указаниям Руководства по проведению доклинических исследований лекарственных средств (часть первая). Эксперименты на животных проводили в соответствии с правилами, принятыми Европейской Конвенцией по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и иных научных целей.

Подбор животных в группы проводили произвольно методом случайных чисел, используя в качестве критерия массу тела. Индивидуальные значения массы тела не отклонялись от среднего значения в группе более чем на 10 %. Животных взвешивали на весах PA2102C (OHAUS). Дизайн исследования представлен в таблице 1.

В течение всего эксперимента за животными вели наблюдение и учитывали клиническое состояние, потребление корма и воды, активность крыс. В качестве ингаляционного наркоза применяли изофлуран.

У 5 животных из каждой группы отбирали кровь для проведения гематологических и биохимических исследований на 2, 7 и 14-е сутки после начала эксперимента. Аспирацию крови с целью биохимических исследований осуществляли в вакуумные пробирки для *in vitro* диагностики Improvacuter (Guangzhou Improve Medical Instruments Co. Ltd, China) с использованием тромбина в качестве активатора

Таблица 1. Дизайн исследования

Table 1. Research design

Дни	Контрольная группа (К) (n = 5)	Опытная группа (n = 15)		
0	Взвешивание животных	Взвешивание животных. Введение тетрахлорметана в оливковое масло в соотношении 50:50 в объеме 2 мл/кг		
2	Клиническое исследование животных. Взвешивание. Аспирация крови для гематологических и биохимических исследований			
		Формирование опытных групп животных		
	Контрольная группа (К) (n = 5)	I опытная группа (n = 5)	II опытная группа (n = 5)	III опытная группа (K _n) (n = 5)
	Взвешивание животных. Общий рацион	Взвешивание животных. Общий рацион + джерки из мяса птицы по стандартной рецептуре (30 г/2 раза в сутки)	Взвешивание животных. Общий рацион + джерки, обогащенные пергой пчелиной (2 %), (30 г/2 раза в сутки)	Взвешивание животных. Общий рацион
7	Клиническое исследование животных. Взвешивание. Аспирация крови для гематологических и биохимических исследований			
14	Клиническое исследование животных. Взвешивание. Аспирация крови для гематологических и биохимических исследований. Эвтаназия крыс. Извлечение печени для гистологических исследований			

сгустка по 2 мл. Для гематологических исследований отбирали по 0,1–0,2 мл в микропробирки с антикоагулянтом К2 ЭДТА для капиллярной крови по 200 мкл ЮНИВЕТ в модификации ЮНИВЕТ-Пм (ТУ 9398-033-59879815-2012). Взятие крови производили из хвостовой вены; кожу предварительно дезинфицировали 95 % раствором этилового спирта.

Мы провели исследование морфологического состава периферической крови, в котором учитывали количество эритроцитов, лейкоцитов, тромбоцитов и уровень гемоглобина.

Для изучения системного действия провели оценку основных показателей метаболизма в сыворотке крови животных, которые включают определение общего белка, альбумина, глобулина, креатинина и мочевины, глюкозы, билирубина и щелочной фосфотазы, а также активности основных ферментов, которые имеют диагностическое значение при нарушении функциональной активности печени (основной орган метаболизма) – аспарата и аланинаминотрансфераза [22, 24].

Биохимические исследования проводили на анализаторе StatFax 3300 с использованием диагностических систем фирмы «Диакон ДС». Для проверки правильности и точности определения биохимических показателей в сыворотке крови использовали контрольную сыворотку по ТУ 9398-022-09807247-2009 (ООО «HOSPITEX DIAGNOSTICS»).

Гистологические исследования проводили следующим способом: извлекали кусочки печени величиной 1×1 см и делали срез органа на замораживающем микротоме. Гистологические срезы толщиной 5–7 мкм изготавливали на замораживающем микротоме Microm HM 525. Для обзорного просмотра гистологические срезы окрашивали гематоксили-

ном и эозином. Окрашенные гистосрезы заключали в канадский бальзам под покровное стекло и подвергали микроскопическому исследованию при помощи биологического микроскопа Биомед С-1 и Fluorescence microscope LF-302 при увеличении окуляра на 10×, объективов на 4×, 10×, 15×, 40× и фотографий на 100× [25].

Все манипуляции с животными были осуществлены в соответствии с Директивой Совета ЕС 2010/63/EU и одобрены этическим комитетом ФГБОУ ВО «Саратовский государственный университет генетики, биотехнологии и инженерии имени Н. И. Вавилова».

Результаты и их обсуждение

В ходе исследования мы установили, что у животных опытной группы на 2 сутки после применения ксенобиотика развивались клинические симптомы интоксикации, которые выражались в гиподинамии и угнетении животных. У животных отмечалась пониженная активность, взъерошенный волосяной покров матового цвета, слизистые оболочки и кожные покровы были бледными с желтоватым оттенком, аппетит снижен.

При анализе гематологических показателей периферической крови крыс опытной группы через 48 ч после начала эксперимента (рис. 1) установлено достоверное повышение общего количества лейкоцитов у крыс с индуцированным гепатитом по сравнению с животными контрольной группы. Увеличение общего количества лейкоцитов возникло за счет гранулоцитарных клеток. Данный факт указывает на развитие воспалительных процессов в организме животных, в частности в печени опытных групп.

При анализе биохимических показателей сыворотки крови крыс (табл. 2) установлено достоверное

повышение индикаторных ферментов печени аламинной и аспарагиновой трансаминаз в сыворотке крови опытных групп крыс через 48 ч после введения 50 % раствора тетрахлорметана на оливковом масле. Данные изменения указывают на способность четыреххлористого углерода запускать процессы перекисного окисления липидов и снижать интегральную антирадикальную активность в печени. Это приводит к повреждению клеточных мембран, в первую очередь, центролобулярных долек печени. Следствием этого является выход цитоплазматических ферментов, к которым относятся трансаминазы, в межклеточное пространство. Их межклеточного пространства цитоплазматические ферменты поступают в кровь, где их активность возрастает.

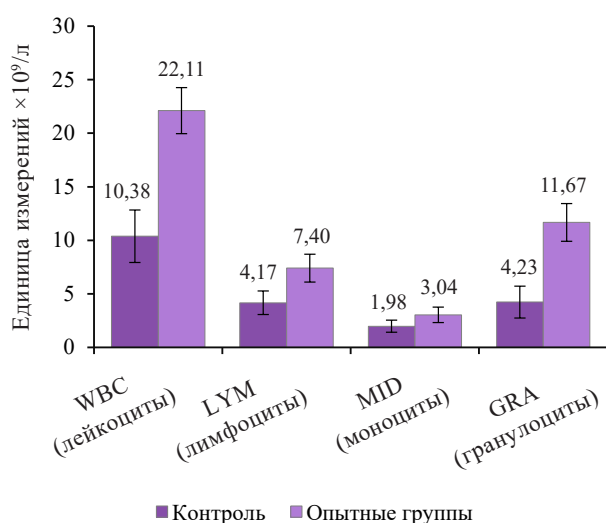


Рисунок 1. Динамика изменений гематологических показателей крови через 48 ч после введения тетрахлорметана

Figure 1. Hematological blood parameters 48 h after carbon tetrachloride injection

В процессе исследования зафиксировали резкое уменьшение концентрации глюкозы в сыворотке крови крыс. Это является следствием повышенных затрат энергии на компенсацию деструктивно-дегенеративных процессов в организме подопытных.

На 7-ой день после начала опыта в I и II опытных группах фиксировали улучшение общего состояния. Лабораторные животные потребляли корм, а также были активны и реагировали на внешние раздражители. В III опытной группе (K_{II}), содержащейся на основном рационе, улучшение общего состояния животных отметили только на 14 сутки. На 14 сутки после начала опыта у животных II опытной группы клинических симптомов интоксикации не отмечалось. У животных I и III (K_{II}) опытных групп отметили гиподинамию и минимальную взъерошенность волосяного покрова.

При анализе гематологических показателей (табл. 3) достоверной разницы между группами животных на 7-е и 14-е сутки эксперимента выявлено не было.

Анализируя биохимические показатели сыворотки крови крыс на 7-е сутки (табл. 4), выявили достоверное повышение белка за счет глобулиновой фракции в I и II опытных группах относительно интактных животных. Это указывает на развитие защитно-компенсаторных механизмов в ответ на действие ксенобиотика (CCl_4). В III опытной группе (K_{II}) общий белок был повышен за счет альбуминов, а сывороточный глобулин был достоверно ниже, чем в контрольной группе. Данный факт может указывать на снижение общей сопротивляемости организма при воздействии внешних патогенных факторов.

На 14-е сутки эксперимента во II опытной группе концентрация белка и его фракций достигла уровня интактных животных, тогда как в I и III (K_{II}) опытных группах общий белок был достоверно выше за счет глобулиновой фракции. Это может быть следствием хронизации воспалительно-деструктивных процессов печени на фоне введения ксенобиотика.

Таблица 2. Биохимические показатели сыворотки крови животных через 48 ч после начала эксперимента

Table 2. Biochemical variables of animal blood serum 48 h into the experiment

Показатель	Норма	Контрольная группа	Опытные группы
Аланинаминотрансфераза, ед./л	34–76	63,70 ± 18,67	478,70 ± 38,30*
Аспартатаминотрансфераза, ед./л	60–223	48,64 ± 3,04	391,10 ± 37,90*
Щелочная фосфатаза ед./л	61–287	213,10 ± 28,50	502,60 ± 112,80*
Мочевина, ммоль/л	3,0–7,8	6,90 ± 1,31	6,40 ± 1,90
Креатинин, ммоль/л	44–85	63,18 ± 4,45	74,80 ± 3,45
Общий белок, г/л	59–82	76,90 ± 5,10	73,10 ± 11,10
Альбумин, г/л	25–38	37,20 ± 3,00	21,90 ± 2,80*
Глобулин, г/л	–	39,70 ± 2,80	50,20 ± 12,70*
Глюкоза, ммоль/л	3–13	6,17 ± 1,40	9,70 ± 1,00
Гамма-глутамилтрансфераза, ед./л	до 7,1	2,90 ± 0,40	14,60 ± 2,12*

* Различие по данному показателю статистически достоверно между опытными и контрольной группами ($p \leq 0,05$ при t критическом 2,78).

* The difference in this indicator is statistically significant between the experimental and control groups ($p \leq 0.05$ with a critical t of 2.78).

Таблица 3. Гематологические показатели крови крыс
Table 3. Hematological profile of rat blood

Показатели	Продолжительность эксперимента, сутки							
	7				14			
	Контрольная группа	I опытная группа	II опытная группа	III опытная группа (K_0)	Контрольная группа	I опытная группа	II опытная группа	III опытная группа (K_0)
Лейкоциты (WBC), $\times 10^9/\text{л}$	11,9 $\pm$ 5,8	14,5 $\pm$ 2,7	18,6 $\pm$ 11,7	10,7 $\pm$ 3,1	8,6 $\pm$ 6,1	11,6 $\pm$ 2,8	13,6 $\pm$ 8,2	11,2 $\pm$ 6,6
Лимфоциты (LYM), $\times 10^9/\text{л}$	2,6 $\pm$ 1,4	4,0 $\pm$ 3,4	4,2 $\pm$ 4,0	5,4 $\pm$ 0,1	3,2 $\pm$ 3,1	3,1 $\pm$ 0,8	3,5 $\pm$ 2,9	3,0 $\pm$ 1,1
Моноциты (MID), $\times 10^9/\text{л}$	1,2 $\pm$ 1,3	1,1 $\pm$ 0,7	1,4 $\pm$ 0,2	1,0 $\pm$ 0,5	0,7 $\pm$ 0,3	1,1 $\pm$ 1,3	0,8 $\pm$ 0,6	1,3 $\pm$ 1,2
Гранулоциты (GRA), $\times 10^9/\text{л}$	8,1 $\pm$ 3,2	9,4 $\pm$ 5,5	13,0 $\pm$ 8,4	4,5 $\pm$ 2,5	4,7 $\pm$ 2,9	7,4 $\pm$ 1,2	9,3 $\pm$ 4,9	6,0 $\pm$ 5,1
Эритроциты (RBC), $\times 10^{12}/\text{л}$	7,3 $\pm$ 0,5	8,1 $\pm$ 0,1	8,5 $\pm$ 0,1	7,3 $\pm$ 0,7	7,1 $\pm$ 0,8	7,8 $\pm$ 0,4	8,6 $\pm$ 0,4	7,8 $\pm$ 0,8
Гемоглобин (HGB), $\times 10^{12}/\text{л}$	137,0 $\pm$ 2,6	149,7 $\pm$ 7,2	145,7 $\pm$ 0,8	124,0 $\pm$ 19,1	137,7 $\pm$ 15,7	147,7 $\pm$ 7,2	154,7 $\pm$ 11,4	137,7 $\pm$ 21,9
Средняя концентрация гемоглобина в эритроците (MCHC), г/л	351,3 $\pm$ 0,7	364,0 $\pm$ 2,6	355,3 $\pm$ 7,8	346,7 $\pm$ 14,6	375,3 $\pm$ 8,6	364,7 $\pm$ 9,1	373,3 $\pm$ 13,2	362,7 $\pm$ 24,5
Содержание гемоглобина в эритроцитах (MCH), Pg	18,4 $\pm$ 0,9	18,5 $\pm$ 0,6	17,1 $\pm$ 0,2	15,5 $\pm$ 1,5	19,5 $\pm$ 0,5	18,9 $\pm$ 0,1	18,0 $\pm$ 0,5	17,2 $\pm$ 2,5
Средний объем эритроцита (MCV), fl	52,5 $\pm$ 2,7	50,9 $\pm$ 1,4	48,0 $\pm$ 1,4	50,4 $\pm$ 2,2	52,1 $\pm$ 2,3	51,8 $\pm$ 0,8	48,2 $\pm$ 1,4	49,8 $\pm$ 3,1
Отклонение объема эритроцитов, (RDW-CV), %	14,7 $\pm$ 0,8	13,8 $\pm$ 2,5	14,2 $\pm$ 2,4	14,0 $\pm$ 1,8	14,3 $\pm$ 0,4	15,1 $\pm$ 0,8	15,5 $\pm$ 3,4	13,7 $\pm$ 1,4
Средний размер эритроцитов (RDW-SD), fl	32,7 $\pm$ 0,3	29,9 $\pm$ 4,8	29,0 $\pm$ 4,7	29,9 $\pm$ 2,6	31,8 $\pm$ 2,2	33,1 $\pm$ 1,6	31,6 $\pm$ 6,1	28,8 $\pm$ 1,1
Гематокрит (HCT), %	38,4 $\pm$ 0,7	41,2 $\pm$ 1,7	41,0 $\pm$ 1,1	38,3 $\pm$ 6,6	36,7 $\pm$ 3,5	40,5 $\pm$ 2,6	41,4 $\pm$ 1,7	40,5 $\pm$ 2,7
Тромбоциты (PLT), $\times 10^9/\text{л}$	544,3 $\pm$ 215,7	659,0 $\pm$ 23,9	670,0 $\pm$ 64,8	489,3 $\pm$ 84,3	548,0 $\pm$ 31,5	719,3 $\pm$ 37,6	683,0 $\pm$ 43,9	718,7 $\pm$ 43,9
Средний объем тромбоцитов (MPV), fl	6,0 $\pm$ 0,7	6,7 $\pm$ 1,4	7,1 $\pm$ 0,1	8,6 $\pm$ 2,9	7,5 $\pm$ 1,7	6,9 $\pm$ 0,4	7,3 $\pm$ 0,2	7,2 $\pm$ 0,8
Относительная ширина распределения тромбоцитов по объему (PDW), fl	6,1 $\pm$ 0,7	7,1 $\pm$ 2,5	8,8 $\pm$ 0,5	10,2 $\pm$ 4,8	8,0 $\pm$ 3,2	8,4 $\pm$ 1,1	9,4 $\pm$ 0,1	8,8 $\pm$ 0,7
Тромбоцит (PCT), %	0,3 $\pm$ 0,2	0,4 $\pm$ 0,2	0,5 $\pm$ 0,0	0,4 $\pm$ 0,3	0,4 $\pm$ 0,3	0,5 $\pm$ 0,1	0,5 $\pm$ 0,2	0,5 $\pm$ 0,1
Содержание больших тромбоцитов (P-LCR), %	2,5 $\pm$ 0,6	7,3 $\pm$ 1,0	7,7 $\pm$ 0,9	22,4 $\pm$ 2,7	11,3 $\pm$ 1,8	6,9 $\pm$ 2,3	8,5 $\pm$ 2,5	9,1 $\pm$ 0,8

Таблица 4. Биохимические показатели сыворотки крови крыс
Table 4. Biochemical profile of rat blood serum

Показатели	Норма	Продолжительность эксперимента, сутки							
		7			14				
		Контрольная группа	I опытная группа	II опытная группа	III опытная группа (K_n)	Контрольная группа	I опытная группа	II опытная группа	III опытная группа (K_n)
Аланинаминотрансфераза, ед./л	34–76	67,9 ± 14,7	92,7 ± 28,3	87,1 ± 8,0	141,9 ± 76,6	52,6 ± 28,2	66,6 ± 24,8	62,8 ± 7,5	90,1 ± 21,4
Аспаратаминотрансфераза, ед./л	60–23	169,9 ± 6,9	157,1 ± 43,9	122,2 ± 8,9	165,5 ± 63,0	110,6 ± 12,3	91,8 ± 7,5	177,9 ± 17,6	136,0 ± 18,8
Щелочная фосфатаза ед./л	61–87	203,1 ± 66,5	296,8 ± 161,8	325,2 ± 67,5	572,8 ± 47,0	197,4 ± 73,0	201,6 ± 5,7	232,4 ± 58,6	215,2 ± 116,8
Мочевина, ммоль/л	3,0–7,8	6,4 ± 0,6	7,8 ± 0,8	7,2 ± 2,3	4,6 ± 0,9	4,5 ± 3,6	5,6 ± 1,1	6,3 ± 2,3	7,0 ± 7,6
Креатинин, ммоль/л	44–85	69,9 ± 22,9	71,5 ± 10,8	72,5 ± 13,8	54,0 ± 3,3	69,3 ± 20,6	74,1 ± 16,6	81,8 ± 4,6	69,9 ± 20,2
Общий белок, г/л	59–82	78,4 ± 4,7	88,9 ± 8,9*	84,8 ± 7,8*	84,8 ± 17,0	65,1 ± 9,3	86,2 ± 7,5*	71,2 ± 16,6*	88,9 ± 5,7*
Альбумин, г/л	25–38	37,2 ± 3,0	31,9 ± 4,5	33,0 ± 1,6	48,1 ± 3,0*	36,4 ± 6,7	35,2 ± 9,4	36,1 ± 9,3	30,8 ± 1,9
Глобулин, г/л	–	41,2 ± 2,8	57,0 ± 8,9*	51,8 ± 8,3*	38,8 ± 7,6*	28,7 ± 8,5	51,0 ± 15,1*	35,1 ± 12,5	58,2 ± 14,8*
Глюкоза, ммоль/л	3–13	9,3 ± 1,8	9,7 ± 1,0	9,3 ± 1,4	14,0 ± 1,3*	6,7 ± 1,8	7,7 ± 2,0	9,9 ± 2,0	15,3 ± 2,3*
Гамма-глутамилтрансфераза, ед./л	до 7,1	5,9 ± 1,9	5,5 ± 0,6	5,4 ± 1,8	5,1 ± 0,9	5,1 ± 0,2	5,4 ± 0,1	5,0 ± 0,1	6,6 ± 0,2

* Различие по данному показателю статистически достоверно между опытными и контрольной группами ($p \leq 0,05$ при t критическом 2,78).

* The difference in this indicator is statistically significant between the experimental and control groups ($p \leq 0,05$ with a critical t of 2,78).

На 7-е и 14-е сутки эксперимента наблюдалось достоверное увеличение концентрации глюкозы в сыворотке крови III опытной группы (K_{II}), что является следствием нарушения белково-углеводного обмена на фоне поражения печени введением четыреххлористого углерода.

К 7-м суткам эксперимента отметили положительную динамику активности цитолитических ферментов печени аланиновой и аспарагиновой аминокотрансфераз. Активность аспаратаминотрансферазы во всех опытных группах, а также в контрольной группе достигает референсных значений для данного вида животных и не имеет достоверных отличий от фоновых значений. Аланинаминотрансфераза, хотя и имеет тенденцию к снижению активности в опытных и контрольной группах, остается выше физиологической нормы. Динамика снижения данного показателя варьируется между группами животных. Интенсивное снижение отмечается во II опытной группе, затем в I, наименее выражено в III (K_{II}). Это указывает на постепенную стабилизацию клеточных мембран гепатоцитов.

К 14 суткам эксперимента активность аланинаминотрансферазы в опытных группах достигает физиологических значений, тогда как в III опытной группе (K_{II}), животным которой вводили ксенобиотики и содержали на основном рационе, активность данного фермента в сыворотке крови остается повышенной. Данные изменения можно интерпретировать как положительное влияние перги пчелиной в составе сыровяленого продукта на регенеративные процессы в паренхиме печени.

Еще одним показателем, характеризующим деструктивно-воспалительные процессы в печени, является щелочная фосфатаза, активность которой в сыворотке крови опытных и контрольных животных через 7 дней эксперимента достоверно выше, чем у фоновых крыс. Это указывает на нарушение желчевыделительной функции печени. Однако прослеживается положительная динамика. В I опытной группе к этому времени активность данного фермента достигает референсных значений для данного вида животных и не выходит за их пределы. Во II опытной

группе активность данного фермента остается выше нормы, но не имеет достоверных отличий от животных I опытной группы. В то время как у животных III опытной группы (K_{II}) активность щелочной фосфатазы к 7-м суткам опыта в 2 раза превышает фоновые значения. Данный факт подтверждает ранее сделанные выводы о положительном влиянии перги пчелиной в составе сыровяленого продукта на сано-генетические процессы в организме животных.

Исследуемые показатели функциональной активности почек, такие как мочевины и креатинин, на всем протяжении опыта не выходили за пределы физиологических значений во всех группах животных. Это указывает на отсутствие нефротоксического действия потребления разрабатываемого продукта животными с индуцированным четыреххлористым углеродом гепатитом.

Еще одним показателем, характеризующим физиологическое развитие животных, является прирост массы тела. Результаты по динамике прироста массы тела крыс при добавлении в рацион кормления разрабатываемых продуктов приведены в таблице 5.

Анализируя полученные данные по динамике прироста живой массы тела лабораторных животных, мы выявили, что интенсивность роста животных (I опытная группа) в первые 7 суток эксперимента была достоверно выше, чем в аналоговых группах. В III опытной группе (K_{II}) животных, которые содержались на основном рационе, отмечалась отрицательная динамика массы тела, что указывает на нарушение со стороны пищеварительной системы при введении четыреххлористого углерода. С 7 по 14 сутки эксперимента среднесуточный прирост живой массы тела крыс III опытной группы (K_{II}) восстановился и не отличался от крыс I и II опытных групп. Снижения прироста живой массы крыс II опытной группы в ходе эксперимента не отмечено, негативных последствий при внесении перги пчелиной в продукт на среднесуточном приросте не выявлено.

На 14-е сутки эксперимента из каждой группы отбирали по одному животному и проводили эвтаназию с извлечением печени для гистологических исследований.

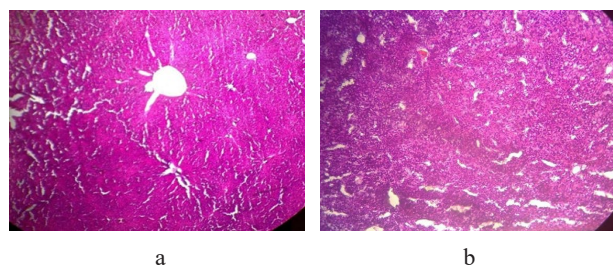
Таблица 5. Динамика прироста живой массы крыс

Table 5. Live weight gain

Группы	Масса, г			Среднесуточный прирост за 7 дней	
	0 суток	7 сутки	14 сутки	с 0 до 7 суток эксперимента	с 7 по 14 сутки эксперимента
Контрольная	318,70 ± 17,46	339,30 ± 24,26	342,30 ± 20,09	3,00 ± 0,98	0,40 ± 0,70
I опытная	260,00 ± 28,82	315,30 ± 14,24	327,70 ± 19,47	7,90 ± 1,29*	1,80 ± 0,77
II опытная	357,70 ± 32,23	365,30 ± 11,30	379,70 ± 14,07	1,10 ± 0,01	2,00 ± 0,71*
III опытная (K_{II})	320,70 ± 37,55	292,70 ± 22,95	308,30 ± 30,10	-4,00 ± 0,31	2,20 ± 0,98*

* Различия по данному показателю статистически достоверно между опытными и контрольной группами ($p \leq 0,05$ при t критическом 2,26).

* The difference in this indicator is statistically significant between the experimental and control groups ($p \leq 0.05$ with a critical t of 2.26).



Примечание. Окрашивание гематоксилином и эозином. Увеличение а – 40×, б – 100×

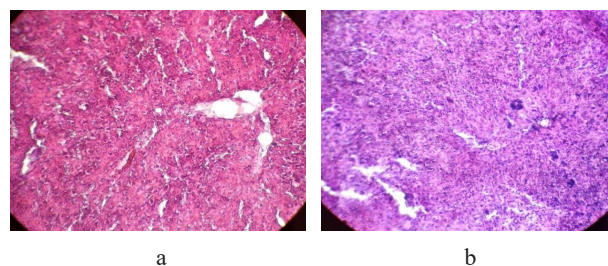
Рисунок 2. Гистологическое строение печени крыс контрольной группы (К)

Figure 2. Liver histology: control group

У животных контрольной группы (К) (рис. 2) зафиксирована декомплексация балочных структур долек печени, междольковая соединительная ткань минимально дифференцирована, междольковые триады многогранной или кубической формы нечеткие, дифференцируются слабо, на перисинусоидальное пространство приходится большая часть органа по сравнению с опытными группами. Ядра гепатоцитов нечеткие и слабо дифференцируются. Стенки центральных вен нечеткие, контуры их слабо выражены, незначительно нарушены, в некоторых присутствует минимальное количество клеток крови.

У животных I опытной группы (рис. 3) наблюдалась развитая и четко дифференцированная паренхима печени в виде многогранных долек, которые минимально разграничены междольковой соединительной тканью. Балки расположены радиально. Гепатоциты в виде шестигранника четко дифференцированы. Ядра гепатоцитов четкие и хорошо дифференцируются, чаще наблюдали одно ядро округлой или овальной формы. Междольковые триады в соединительной ткани, состоящие из артерии, вены и желчного выводного протока, прослеживаются на границе трех долек. Животные, получавшие мясные джерки в составе рациона, имели четкие стенки центральных вен, которые хорошо контурированы. Некоторые из них содержали минимальное количество клеток крови, что указывает на более интенсивное течение кровообращения в застенной пищеварительной железе животных опытных групп по сравнению с контрольной (К).

Развитую паренхиму застенной пищеварительной железы в виде многогранных долек, разграниченных минимальным количеством междольковой соединительной ткани, фиксировали у лабораторных животных II опытной группы (рис. 4). Балки, следующие от стенок долек до центральных вен, расположены радиально. Гепатоциты многогранной или кубической формы четкие. Ядра гепатоцитов четкие и хорошо дифференцируются, чаще наблю-



Примечание. Окрашивание гематоксилином и эозином, Увеличение а – 40×, б – 100×

Рисунок 3. Гистологическое строение печени крыс I опытной группы

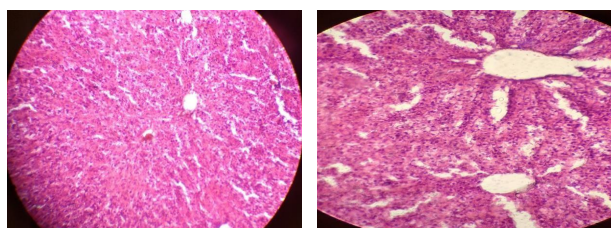
Figure 3. Liver histology: experimental group I

дали одно ядро округлой или овальной формы. Между балками печени хорошо видны синусоидальное пространства. Междольковые триады четкие, включают в себя междольковую артерию, вену и желчный выводной проток.

У животных, в состав рациона которых добавляли джерки, обогащенные пергой пчелиной, стенки центральных сосудов печени были более четкими и контурированными. Присутствие у крыс II опытной группы минимального количества клеток крови указывает на интенсивное течение метаболических процессов и кровообращение по сравнению с контрольной группой. Колебания радиуса печеночных долек в опытных группах указывает на интенсивное кровообращение у животных и свидетельствует о повышении активности метаболических процессов по сравнению с животными контрольной группы.

У животных III опытной группы (K_{III}) (рис. 5) паренхима печени в виде балок сохранена, междольковая ткань развита минимально. Балки, следующие радиально от стенок многогранных долек до центральных сосудов изучаемого органа, на некоторых участках минимально не дифференцируются. Гепатоциты многогранной формы плотно прилегают друг к другу. Ядра гепатоцитов нечеткие и слабо дифференцируются. Междольковые триады слабо дифференцируются. Целостность стенки центральных вен и структура междольковых триад нарушены, перисинусоидальное пространство минимально дифференцируется по сравнению с крысами I и II опытных групп.

Указанные положительные влияния в печени животных II опытной группы связаны с антиоксидантной способностью перги пчелиной, подтвержденной в работах V. Aylanc с соавторами [26]. Антиоксидантная активность перги пчелиной связана с биодоступностью общего содержания фенолов и флавоноидов – 38 и 35 % соответственно. Z. Zakaria с соавторами провели эксперимент на крысах и доказали, что перга пчелиная подавляла



а

б

Примечание. Окрашивание гематоксилином и эозином, Увеличение а – 40×, б – 100×

Рисунок 4. Гистологическое строение печени крыс II опытной группы

Figure 4. Liver histology: experimental group II

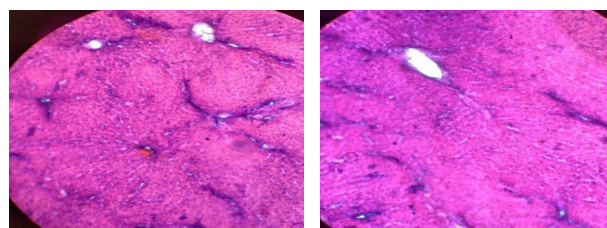
синтез липидов и повышала уровень β -окисления жирных кислот в печени крыс с ожирением. Это соответствовало снижению уровня липидов, улучшало гистопатологические изменения в печени (стеатоз, гепатоцеллюлярная гипертрофия, воспаление и экспрессия гликогена) и предотвращало прогрессирование донеалкогольного стеатогепатита [27].

Выводы

Потребление лабораторными крысами сыровяленых мясных изделий, обогащенных пергой пчелиной, не оказывает отрицательного и побочного действия, что доказано при доклиническом исследовании в процессе опыта. Нежелательные осложнения и аллергические реакции со стороны крыс во время и после применения продукта отсутствовали.

Опытным животным в ходе опыта лекарственная терапия не проводилась. Разрабатываемый продукт не является терапевтическим средством, поэтому достоверной разницы физиологических показателей, кроме белкового и углеводного обменов, а также общих клинических показателей, нами не наблюдалось.

Применение сыровяленых мясных продуктов (джерки) с добавлением перги пчелиной в рационах крыс при моделированном остром токсическом гепатите способствует более быстрому купированию патологического процесса, вызванного четыреххлористым углеродом, что может быть связано с антиоксидантными свойствами перги пчелиной.



а

б

Примечание. Окрашивание гематоксилином и эозином, Увеличение а – 40×, б – 100×

Рисунок 5. Гистологическое строение печени крыс III опытной группы (K_{II})

Figure 5. Liver histology: experimental group III (positive control)

Критерии авторства

М. А. Сухов – обзор литературы, проведение и обработка результатов экспериментальных исследований, написание статьи. Т. М. Гиро – научное руководство, анализ результатов исследования, написание и редактирование статьи. С. В. Козлов – постановка и проведение опытов на лабораторных животных, обработка результатов эксперимента. И. В. Зирук – проведение гистологических исследований, обработка полученных результатов.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Contribution

M.A. Sukhov performed the review, conducted the experimental studies, processed their results, and wrote the manuscript. T.M. Giro supervised the research, analyzed the results, wrote and proofread the manuscript. S.V. Kozlov organized and conducted the experiments on laboratory animals, as well as processed the experimental results. I.V. Ziruk was responsible for the histological tests.

Conflict of interest

The authors declare that there is no conflict of interest regarding the publication of this article.

References/Список литературы

1. Moliboga EA, Sukhostav EV, Kozlova OA, Zinich AV. Functional food market analysis: Russian and international aspects. *Food Processing: Techniques and Technology*. 2022;52(4):775–786. (In Russ.). <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2022-4-2405>
2. Burakova EV. Optimization of enriching technology for cooked sausages with biologically active micronutrients. *Izvestiya Vuzov. Food Technology*. 2020;385(1):11–15. (In Russ.). <https://doi.org/10.26297/0579-3009.2022.1.2>
3. Giro TM, Kozlov SV, Gorlov IF, Kulikovskii AV, Giro AV, Slozhenkina MI, *et al.* Biomedical evaluation of antioxidant properties of lamb meat enriched with iodine and selenium. *Open Life Sciences*. 2022;17(1):180–188. <https://doi.org/10.1515/biol-2022-0020>

4. Klychenkov SV, Kruchinina AD. Antibacterial properties of beekeeping products. EurasiaScience: Collected Papers XII International Scientific-Practical conference; 2017; Moscow. Moscow: Actualnost.RF; 2017. p. 22–24. (In Russ.). [Клыченков С. В., Кручинина А. Д. Антибактериальные свойства продуктов пчеловодства // EurasiaScience: Сборник статей XII международной научно-практической конференции. М., 2017. С. 22–24.]. <https://elibrary.ru/XNWXXVU>
5. Shavrina DI, Nesterova NV, Nesterova OV, Birukova NV, Iaroshenko AA. Studying possibilities of using beebread in medicine with the follow-up development of a means to improve immunity. RUDN Journal of Medicine. 2019;23(4): 412–417. (In Russ.). <https://doi.org/10.22363/2313-0245-2019-23-4-412-417>
6. Barbieri D, Gabriele M, Summa M, Colosimo R, Leonardi D, Domenici V. Antioxidant, nutraceutical properties, and fluorescence spectral profiles of bee pollen samples from different botanical origins. Antioxidants. 2020;9(10). <https://doi.org/10.3390/antiox9101001>
7. Mărgăoan R, Stranț M, Varadi A, Topal E, Yücel B, Cornea-Cipcigan M, et al. Bee collected pollen and bee bread: Bioactive constituents and health benefits. Antioxidants. 2019;8(12). <https://doi.org/10.3390/antiox8120568>
8. Dranca F, Ursachi F, Oroian M. Bee bread: Physicochemical characterization and phenolic content extraction optimization. Foods. 2020;9(10). <https://doi.org/10.3390/foods9101358>
9. Olas B. Bee products as interesting natural agents for the prevention and treatment of common cardiovascular diseases. Nutrients. 2022;14(11). <https://doi.org/10.3390/nu14112267>
10. Sukhov MA, Giro TM. Jerky snacks enriched with vitamin-mineral complex. Meat Industry. 2021;(3):36–40. (In Russ.). <https://doi.org/10.37861/2618-8252-2021-03-36-40>
11. Sukhov MA, Giro TM. Development of technology for meat products enriched with essential trace elements. IOP Conference Series: Earth and Environmental Science. 2021;640. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/640/3/032032>
12. Fatyanov EV, Avylov ChK, Aleinikov AK, Evteev AV, Mokretsov IV. Study of changes in physical and chemical parameters in the production of meat snacks. The Agrarian Scientific Journal. 2022;(10):116–120. (In Russ.). <https://doi.org/10.28983/asj.y2022i10pp116-120>
13. Elmas F, Bodruk A, Köprüalan Ö, Arikaya S, Koca N, Serdaroglu FM, et al. The effect of pre-drying methods on physicochemical, textural and sensory characteristics on puff dried Turkey breast meat. LWT. 2021;145. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.111350>
14. Ghosh S, Gillis A, Levkov K, Vitkin E, Golberg A. Saving energy on meat air convection drying with pulsed electric field coupled to mechanical press water removal. Innovative Food Science and Emerging Technologies. 2020;66. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2020.102509>
15. Lisitsyn AB, Chernukha IM, Nikitina MA. Russian methodology for designing multicomponent foods in retrospect. Foods and Raw Materials. 2020;8(1):2–11. <https://doi.org/10.21603/2308-4057-2020-1-2-11>
16. Staroverov SA, Kozlov SV, Brovko FA, Fursova KK, Shardin VV, Fomin AS, et al. Phage antibodies against heat shock proteins as tools for *in vitro* cancer diagnosis. Biosensors and Bioelectronics: X. 2022;11. <https://doi.org/10.1016/j.biosx.2022.100211>
17. Krasochko PA, Moroz DN, Ponaskov MA, Kolesnikovich KV. Toxicology study of a new feed based on modified bee-bread. Bulletin of Altai State Agricultural University. 2020;186(4):77–85. (In Russ.). [Токсическое исследование нового корма на основе модифицированной пчелиной перги / П. А. Красочко [и др.] // Вестник Алтайского государственного аграрного университета. 2020. Т. 186. № 4. С. 77–85.]. <https://www.elibrary.ru/ADKDXD>
18. Ispirli H, Dertli E. Detection of fructophilic lactic acid bacteria (FLAB) in bee bread and bee pollen samples and determination of their functional roles. Journal of Food Processing and Preservation. 2021;45(5). <https://doi.org/10.1111/jfpp.15414>
19. Suleiman JB, Mohamed M, Abu Bakar AB, Nna VU, Zakaria Z, Othman ZA, et al. Chemical profile, antioxidant properties and antimicrobial activities of Malaysian *Heterotrigona itama* bee bread. Molecules. 2021;26(16). <https://doi.org/10.3390/molecules26164943>
20. Bakour M, Laaroussi H, Ousaid D, El Ghouizi A, Es-Safi I, Mechchate Hamza, et al. Bee bread as a promising source of bioactive molecules and functional properties: An up-to-date review. Antibiotics. 2022;11(2). <https://doi.org/10.3390/antibiotics11020203>
21. Khalifa SAM, Elashal M, Kieliszek M, Ghazala NE, Farag MA, Saeed A, et al. Recent insights into chemical and pharmacological studies of bee bread. Trends in Food Science and Technology. 2020;97:300–316. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2019.08.021>
22. Pavelková A, Haščík P, Kalafová A, Capcarová M, Čuboň J, Bučko O, et al. Chemical composition of muscle after bee bread application in the nutrition of Japanese quails. Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences. 2020;9(4):831–835. <https://doi.org/10.15414/jmbfs.2020.9.4.831-835>
23. Li Z, Huang Q, Liu Y, Peng C, Zeng Z. Natural bee bread positively regulates lipid metabolism in rats. International Journal of Agricultural Science and Food Technology. 2021;7(3):266–271. <https://doi.org/10.17352/2455-815X.000118>

24. Krasnikova ES, Kozlov SV, Krasnikov AV, Belyakova AS, Radionov RV. The dynamics of humoral immunity factors in rats under experimental BLV infection. IOP Conference Series: Earth and Environmental Science. 2021;677. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/677/3/032114>
25. Ziruk IV, Rysmukhambetova GE, Beloglazova KE, Kopchekchi ME, Tarasova AA. Effect of food additive E415 on the microstructure of rat liver. Agrarian Science. 2021;(10):14–16. (In Russ.). <https://doi.org/10.32634/0869-8155-2021-353-10-14-16>
26. Aylanc V, Tomás A, Russo-Almeida P, Falcão SI, Vilas-Boas M. Assessment of bioactive compounds under simulated gastrointestinal digestion of bee pollen and bee bread: Bioaccessibility and antioxidant activity. Antioxidants. 2021;10(5). <https://doi.org/10.3390/antiox10050651>
27. Zakaria Z, Othman ZA, Suleiman JB, Mustaffa KMF, Jalil NAC, Ghazali WSW, *et al.* Therapeutic effects of *Heterotrigena itama* (stingless bee) bee bread in improving hepatic lipid metabolism through the activation of the Keap1/Nrf2 signaling pathway in an obese rat model. Antioxidants. 2022;11(11). <https://doi.org/10.3390/antiox11112190>

<https://doi.org/10.21603/2074-9414-2023-4-2478>
<https://elibrary.ru/XMWUQW>

Оригинальная статья
<https://fptt.ru>

Влияние упаковки на качество пищевых концентратов из корнеплодов



О. К. Мотовилов^{1,*}, О. В. Голуб¹, Н. И. Давыденко²,
Г. П. Чекрыга¹, А. Г. Степанова³

¹ Сибирский федеральный научный центр агробиотехнологий Российской академии наук,
Краснообск, Россия

² Кемеровский государственный университет^{ROR}, Кемерово, Россия

³ Сибирский университет потребительской кооперации^{ROR}, Новосибирск, Россия

Поступила в редакцию: 09.12.2022

Принята после рецензирования: 17.02.2023

Принята к публикации: 07.03.2023

*О. К. Мотовилов: ol_mot@ngs.ru,

<https://orcid.org/0000-0003-2298-3549>

О. В. Голуб: <https://orcid.org/0000-0003-2561-9953>

Н. И. Давыденко: <https://orcid.org/0000-0003-2479-8750>

Г. П. Чекрыга: <https://orcid.org/0000-0002-3756-1798>

А. Г. Степанова: <https://orcid.org/0000-0002-0150-3924>

© О. К. Мотовилов, О. В. Голуб,

Н. И. Давыденко, Г. П. Чекрыга, А. Г. Степанова, 2023



Аннотация.

Национальные традиции русской кухни представляют пищевую идентичность народов, проживающих на территории России. Однако современные тенденции в питании привели к унифицированию и нивелированию особенностей производства и потребления продуктов русской кухни. Цель работы заключалась в исследовании влияния упаковки и продолжительности хранения на характеристики качества пищевых концентратов – каш, не требующих варки, из корнеплодов репы и брюквы.

Объектами исследования являлись показатели качества пищевых концентратов. Образцы каш, не требующих варки, из корнеплодов репы и брюквы упаковывали в саше-пакеты и стаканчики из комбинированных материалов. Образцы хранили при температуре 20–25 °С и относительной влажности не более 75 % в течение 8 месяцев. Для оценки органолептических, физико-химических и микробиологических показателей применяли общепринятые и стандартные методы исследования.

Суммарная органолептическая оценка после 6 и 8 месяцев хранения выше на 1,0 и 2,0 баллов соответственно у пищевых концентратов, упакованных в стаканчики, чем у образцов в саше-пакетах. Вид используемой упаковки не влиял на содержание влаги и жира в продукте в процессе хранения. Восстанавливаемость пищевых концентратов в стаканчиках лучше, чем в саше-пакетах, на 10,9 и 14,2 % через 6 и 8 месяцев хранения соответственно. Количество мезофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов в пищевых концентратах, упакованных в стаканчики, меньше в 11,0 раз через 6 месяцев хранения и в 3,2 раза через 8 месяцев хранения по сравнению с образцами в саше-пакетах. Дрожжи, плесени, *Bacillus cereus*, бактерии группы кишечных палочек и патогенные микроорганизмы в пищевых концентратах не выявлены.

Результаты показали, что срок хранения, в отличие от упаковки, оказывал наибольшее влияние на характеристики качества пищевых концентратов. Для изученных видов упаковок рекомендуемый срок годности составил 6 месяцев. Перспективными являются исследования о влиянии других видов и материалов упаковок на качество пищевых концентратов.

Ключевые слова. Пищевые концентраты, корнеплоды, репа, брюква, качество, безопасность, упаковка, срок годности

Для цитирования: Влияние упаковки на качество пищевых концентратов из корнеплодов / О. К. Мотовилов [и др.] // Техника и технология пищевых производств. 2023. Т. 53. № 4. С. 786–795. <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2023-4-2478>

Effect of Packaging on Instant Foods from Root Vegetables



Oleg K. Motovilov^{1,*}, Olga V. Golub¹, Nataliia I. Davydenko²,
Galina P. Chekryga¹, Alla G. Stepanova³

¹ Siberian Federal Scientific Center of Agro-BioTechnologies of the Russian Academy of Sciences,
Krasnoobsk, Russia

² Kemerovo State University^{ROR}, Kemerovo, Russia

³ Siberian University of Consumer Cooperation^{ROR}, Novosibirsk, Russia

Received: 09.12.2022

Revised: 17.02.2023

Accepted: 07.03.2023

*Oleg K. Motovilov: ol_mot@ngs.ru,

<https://orcid.org/0000-0003-2298-3549>

Olga V. Golub: <https://orcid.org/0000-0003-2561-9953>

Nataliia I. Davydenko: <https://orcid.org/0000-0003-2479-8750>

Galina P. Chekryga: <https://orcid.org/0000-0002-3756-1798>

Alla G. Stepanova: <https://orcid.org/0000-0002-0150-3924>

© O.K. Motovilov, O.V. Golub, N.I. Davydenko,
G.P. Chekryga, A.G. Stepanova, 2023



Abstract.

Russian cuisine reflects the identity of its peoples. However, modern nutrition tends to level the multicultural peculiarities of Russian cuisine. This research objective was to identify the effect of packaging and storage time on the quality profile of instant turnip and rutabaga porridges.

The study featured quality indicators of food concentrates. Samples of instant porridges were packaged in sachet bags and cups made of complex materials. They were stored at a 20–25°C and a relative humidity of ≤ 75% for 8 months. The sensory, physicochemical, and microbiological variables were measured using standard research methods.

After 6 and 8 months of storage, the total sensory assessment for the porridge cups was higher by 1.0 and 2.0 points, respectively, than for the porridge sachets. The cups did not affect the moisture and fat content during storage. The recoverability of the cupped samples was higher by 10.9 and 14.2% after 6 and 8 months of storage, respectively. The mesophilic aerobic and facultative anaerobic microbial count for porridge cups fell by 11.0 times after 6 months of storage and by 3.2 times after 8 months of storage, compared to the sachets. The tests revealed no yeast, mold, *Bacillus cereus*, coliform bacteria, or pathogenic microorganisms.

Shelf-life had a greater effect on quality profile of instant porridge than packaging. In this research, the recommended shelf life for instant turnip and rutabaga porridges was 6 months. The effect of other packaging types and materials on food concentrates is a promising research direction.

Keywords. Food concentrates, root crops, turnip, rutabaga, quality, safety, shelf life

For citation: Motovilov OK, Golub OV, Davydenko NI, Chekryga GP, Stepanova AG. Effect of Packaging on Instant Foods from Root Vegetables. Food Processing: Techniques and Technology. 2023;53(4):786–795. (In Russ.). <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2023-4-2478>

Введение

В 2010 г. национальные кулинарные традиции и блюда признаны ЮНЕСКО нематериальным культурным наследием, поскольку представляют собой пищевую идентичность народов [1, 2]. Еду как культурное наследие изучают в различных контекстах. Например, при разработке стратегий «диет планетарного здоровья», выборе продуктов питания, развитии агротуризма и пр. [3–5].

Русская кухня представляет собой яркое и самобытное явление, обусловленное историей страны.

Данное явление включает этническое своеобразие производства и потребления продуктов как проживающих на территории страны народов, так и иммигрировавших с других регионов и континентов [6, 7]. Ассортимент продуктов русской кухни разнообразен. Например, супы-похлебки, каши, пироги из/с использованием зерен (ржи, полбы, ячменя и пр.), овощей (репы, брюквы, ревеня и пр.), субпродуктов (хвостов, почек, губ и пр.), рыб (осетрины, сельди, белуги и пр.) и грибов (белых, подберезовиков, груздей и пр.), приготовленных в русской печи. Однако заимствование

или адаптация зарубежных блюд, распространение «модных» диет и пищевых добавок привело к унификации и нивелированию особенностей производства и потребления продуктов русской кухни. Например, квашение корнеплодов сегодня применяется только к капусте, а вместо меда используется сахар и пр. [8, 9]. Поэтому необходимо создать научную базу не только для сохранения и развития русской кухни, но и для улучшения имиджа страны и продвижения идей здорового питания на основе изучения этнических и локальных кулинарных традиций.

Сегодня в русской кухне существуют некоторые формы ее развития, которые широко используются предприятиями пищевой промышленности. Например, восстановление и производство пищевых продуктов (блюд) по старинным рецептам и/или создание новых, опирающихся на национальные традиции [8].

Одним из самых распространенных блюд русской кухни были каши. Однако их место в рационе питания современного человека снижается. На Руси каши употребляли не только в повседневной жизни, но и на торжественных мероприятиях (свадьбах, празднествах по случаю окончания жатвы и пр.). Их готовили не только из зерен и круп, но и из рыб (сига, лосося, сельди и пр.), овощей (гороха, моркови, репы и пр.) и других продуктов. По консистенции различали каши в виде кашицы (жидкие), мазни (вязкие) и крутые (рассыпчатые), а также с различными добавками растительного (орехов, лука репчатого и пр.) и животного (меда, молока и пр.) происхождения [9, 10].

Наиболее распространенными овощами в русской кухне были горох, репа и брюква. Данные овощи сегодня практически нельзя встретить в торговой сети, а также в составе современной пищевой продукции. Овощи в русской кухне употребляли в самостоятельном виде (сырыми, солеными, квашеными, пареными, вареными или печеными) или в составе других блюд (похлебка, окрошка, каша, пироги и пр.) [11, 12].

Современный человек из-за сокращения свободного времени делает выбор в пользу удобных и уже готовых к употреблению продуктов или продуктов быстрого приготовления, в основном пищевых концентратов. В результате этого предприятия пищевой промышленности проводят работы в областях разработки и производства продукции, которая отвечает требованиям человека, науки о питании и современным тенденциям. Л. Н. Шатнюк и др. разработали бульонные кубики, которые содержат в своем составе витамины группы В и железо [13]. Е. Ю. Егоровой и И. Ю. Резниченко доказано, что использование при выработке полуфабрикатов безглютеновых кексов амарантовой муки повышает содержание легкоусвояемых безглютеновых белков и пищевых волокон, а также снижает общее содержание жиров [14]. С. С. Морзова с соавторами создали рецептуры пищевых концентратов киселей с природными подсластителями (стевииозидом E960, ксилитом E967,

мальтитом E965 и фруктозой кристаллической), которые обладают низкими калорийностью и содержанием сахара [15]. Е. С. Стаценко и Г. А. Кодирова показали перспективность использования метода многофакторного анализа, который учитывает количество и диаметр частиц обогащающей добавки, а также содержание влаги в готовой продукции, при разработке рецептур пищевых концентратов вторых обеденных блюд: пудинга рисового, каши гречневой и пюре картофельного [16]. Д. С. Куликовым с соавторами разработан биотехнологический процесс получения белковых концентратов на основе биокаталитической и микробной конверсии гороховой муки и вторичного продукта крахмального производства (сыворожки) [17].

В последние годы осуществляются разработки пищевых концентратов (каш) с использованием круп и местного растительного сырья, но без учета русских традиций. О. В. Скрипко с соавторами разработали «Каша гречневая с соево-папоротниковым белково-витаминно-минеральным концентратом», которая обладает повышенной пищевой ценностью, в том числе физиологической [18]. В. Н. Невзоров и др. разработали «Овсяная каша с брусникой» и «Овсяная каша с черникой», качественные характеристики которых обеспечиваются созданной машиной для измельчения пропаренного сырья [19]. Известны способы получения пищевых концентратов из овощного сырья: продукта из гороха, который не требует варки (восстановление в течение 6–8 минут при выдерживании в горячей воде) и обладает высокими качественными характеристиками, а также каши с высоким содержанием нативных биологически активных веществ из круп (рисовой, перловой или пшеничной) и овощей (топинамбура и моркови) [20, 21].

Характеристики качества пищевой продукции (органолептические показатели, безопасность использования и пр.), которые отвечают требованиям современного человека, должны быть стабильными на протяжении всего срока хранения. Это зависит от множества факторов: сырья, технологий изготовления, условий хранения, упаковки и пр. [22, 23]. Поэтому сегодня проводят исследования по выявлению роли упаковки в формировании и обеспечении стабильности качества пищевой продукции. К. Ebrahimi Monfared с соавторами установили, что мясли, упакованные в анаэробных условиях и хранившиеся при 4 °С, обладают лучшими пробиотическими свойствами, чем продукция, хранившаяся при 25 °С или упакованная в аэробных условиях и хранившаяся при 4 или 25 °С [24]. S. Benjakul и др. выявили, что сохранность показателей качества (влажность, содержание, активность воды, цвет, текстура и др.) злакового батончика, обогащенного гидролизированным коллагеном из кожи морского окуня и содержащего порошок зеленого чая и лимонной кислоты, при хранении в течение 6 месяцев при температуре 25 °С

без доступа солнечных лучей лучше в упаковке из ламинированного полиэтилена/алюминиевой фольги в присутствии азота, чем в упаковке с полипропиленом с нормальной термосваркой [25].

Однако научных работ, направленных на разработку технологий производства пищевых концентратов из «забытых» овощей с учетом национальных традиций с определением влияния различных факторов (тип и вид упаковки, температуры, влажности и пр.) на характеристики качества, недостаточно. Следовательно, данное направление необходимо развивать.

Цель исследования – изучить влияние упаковки и продолжительности хранения на характеристики качества пищевых концентратов из корнеплодов, не требующих варки.

Объекты и методы исследования

Объектом исследования являлись характеристики качества пищевых концентратов из корнеплодов, не требующих варки (каш из корнеплодов).

На рисунке 1 представлена технологическая схема производства каши из корнеплодов.

Особенности производства каши из корнеплодов заключаются в том, что – корнеплоды репы и брюквы воспринимаются как неотъемлемая часть традиционной русской кухни, интерес к которой возрождается. Использование данных корнеплодов не только положительно влияет на формирование оригинальных органолептических характеристик готового продукта (внешнего вида, цвета, консистенции, запаха и вкуса), но и обеспечивает поступление в организм человека дополнительного количества необходимых биологически активных компонентов (углеводов, пищевых волокон, флавоноидов, витаминов и других специфически действующих веществ) [26, 27]; – содержащиеся в большом количестве углеводы (крахмал) и белковые вещества круп (рисовой или перловой) изменяют свои нативные свойства в процессе технологической обработки. Следовательно,

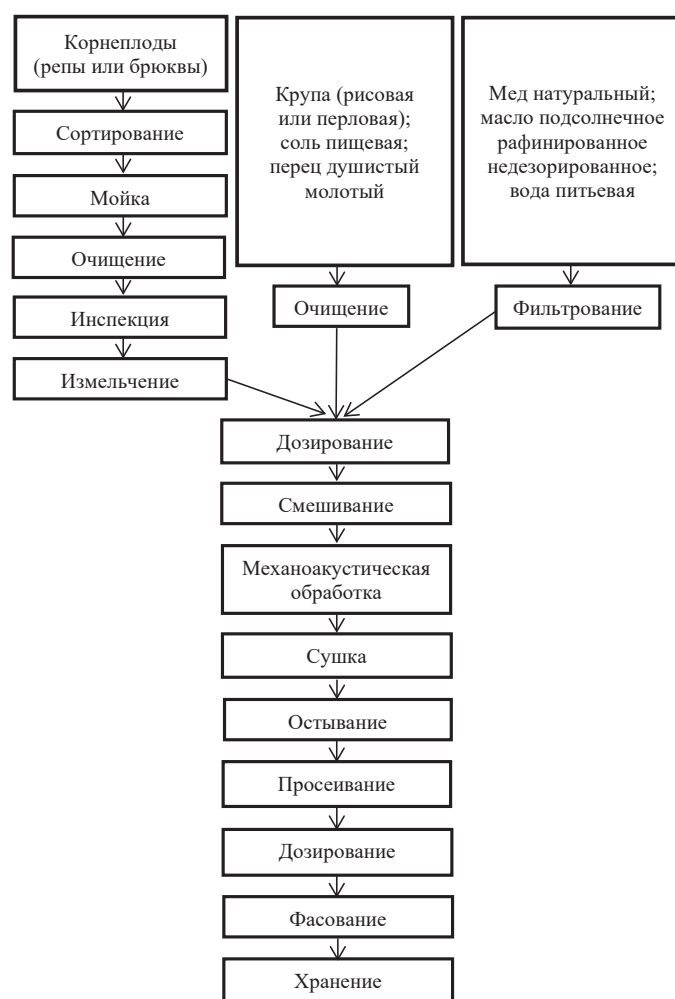


Рисунок 1. Принципиальная технологическая схема производства пищевого концентрата, не требующего варки

Figure 1. Production scheme for instant porridge from root vegetables

они обуславливают формирование оригинальных органолептических характеристик готового продукта (внешнего вида, консистенции, запаха и вкуса); – механоакустическая обработка полученной смеси (корнеплодов, крупы, соли пищевой, меда натурального и/или масла подсолнечного, перца душистого, воды питьевой) в аппарате, снабженном роторно-диспергирующим устройством, которое создает акустическое поле с интенсивностью 100–500 Вт/кг при температуре 100–102 °С в течение 10–15 мин (МАГ-50, Россия), и сушка при температуре 50–70 °С приводят не только к изменениям коллоидно-химических свойств ингредиентов (коагуляции белков, клейстеризации крахмала и пр.), но и к инаktivации ферментов и ингибированию микроорганизмов. Это обеспечивает сохранение качественных характеристик продукта в течение длительного срока хранения.

Фасование каши из корнеплодов массой 25 г осуществляли в трехшовные саше-пакеты из комбинированных термосвариваемых материалов (пакеты) или стаканчики из полипропилена с пластинкой из алюминиевой фольги (стаканчики). Хранение каши из корнеплодов осуществляли при температуре 20–25 °С и относительной влажности не более 75 % в течение 8 месяцев (срок хранения выбрали с учетом требований МУК 4.2.1847-04).

Рецептуры каши из корнеплодов представлены в таблице 1.

При проведении исследований использовали сырье, по качественным характеристикам соответствующее требованиям действующей нормативной документации.

Экспериментальные исследования проводили в лабораториях Сибирского федерального научного центра агробиотехнологий Российской академии наук.

Таблица 1. Рецептуры пищевых концентратов (каш), не требующих варки, из корнеплодов (без учета потерь)

Table 1. Formulations for instant porridges from root vegetables (lossless)

Сырье	кг на 1000 кг готовой продукции	
	Из корнеплодов репы	Из корнеплодов брюквы
Свежие корнеплоды репы	700,0	–
Свежие корнеплоды брюквы	–	700,0
Крупа рисовая	25,0	–
Крупа перловая	–	25,0
Соль пищевая	1,2	1,2
Мед натуральный	25,0	–
Масло подсолнечное	–	7,5
Перец душистый	–	0,1

В образцах каши из корнеплодов исследовали следующие показатели:

– органолептические (внешний вид сухого продукта, цвет сухого и готового к употреблению продукта, запах и вкус сухого и готового к употреблению продукта, консистенция готового к употреблению продукта). Оценка осуществлялась описательным методом согласно ГОСТ 15113.3-77. Оценка по балльной системе осуществлялась по ГОСТ 8756.1-2017 с использованием плиты программируемой ПЛП-03 НПП («Томьяналит», Россия). Испытания органолептических показателей готовых к употреблению каш из корнеплодов осуществляли после приготовления по следующему способу: 25 г заливали при непрерывном помешивании 150 см³ питьевой водой температурой 96–98 °С и настаивали в течение 3–5 мин под закрытой крышкой, после чего еще раз перемешивали;

– физико-химические. Массовую долю влаги определяли гравиметрическим методом по ГОСТ 15113.4-2021 с использованием весов аналитических Ohaus PA214 (Китай) и шкафа сушильного ШС-80 (Россия); жира – методом настаивания с растворителем по ГОСТ 15113.9-77 с использованием весов аналитических Ohaus PA214 (Китай) и шкафа сушильного ШС-80 (Россия); минеральных, металлических и посторонних примесей – методами, основанными на отделении примесей от продукта горячей водой и определении массовой доли минеральных примесей весовым способом, разборе и выделении посторонних примесей из испытуемой навески, выделении металломагнитных примесей с помощью подковообразного магнита и металлических немагнитных примесей путем механического разбора соответственно по ГОСТ 15113.2-77 с использованием весов аналитических Ohaus PA214 (Китай), гомогенизатора HG-15F-Set (Корея) и шкафа сушильного ШС-80 (Россия); восстанавливаемости – методом, основанном на органолептической оценке восстанавливаемых концентратов по ГОСТ 19327-84 с использованием весов аналитических Ohaus PA214 (Китай) и плиты программируемой ПЛП-03 НПП («Томьяналит», Россия);

– микробиологические. Содержание дрожжей и плесневых грибов определяли методом количественного выявления их присутствия по ГОСТ 10444.12-2013 с использованием термостата MIR-262 Sanyo (Япония), шкафа сушильного ШС-80 (Россия), бани водяной LOIP LB-163 (Россия), настольного измерителя pH Ohaus Starter 2100 (Китай) и микроскопа Микромед 2 (Россия); *Bacillus cereus* – методом количественного выявления присутствия бактерий рода *Bacillus* по ГОСТ 10444.8-2013 с использованием стерилизатора парового ВК-0701 (Россия), термостата ТГУ-01-200 (Россия), бани водяной LOIP LB-163 (Россия), настольного измерителя pH Ohaus Starter 2100 (Китай) и микроскопа Микромед 2 (Россия); бактерий группы

кишечных палочек (колиформ) – методом выявления титра данных бактерий по ГОСТ 31747-2012 с использованием весов аналитических Ohaus PA214 (Китай), весов лабораторных Ohaus PA2102C (Китай), микроскопа Микромед 2 (Россия) и термостата MIR-262 Sanyo (Япония); патогенных бактерий, в том числе сальмонелл, – методом выявления присутствия бактерий рода *Salmonella* по ГОСТ 31659-2012 с использованием стерилизатора парового ВК-0701 (Россия), термостата MIR-262 Sanyo (Япония), бани водяной LOIP LB-163 (Россия), весов аналитических Ohaus PA214 (Китай), весов лабораторных Ohaus PA2102C (Китай), микроскопа Микромед 2 (Россия) и настольного измерителя pH Ohaus Starter 2100 (Китай); мезофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов – методом выявления их количества по ГОСТ 10444.15-94 с использованием весов аналитических Ohaus PA214 (Китай), весов лабораторных Ohaus PA2102C (Китай), микроскопа Микромед 2 (Россия) и термостата ТГУ-01-200 (Россия).

Используя программу MS Excel осуществляли статистическую обработку экспериментальных данных (уровень достоверности $p \leq 0,05$).

Для исследования степени влияния факторов («А» – вид упаковки; «В» – срок хранения) на изменение исследуемого результативного признака (органолептических, физико-химических и микробиологических показателей) проводили двухфакторный дисперсионный анализ экспериментальных данных с использованием программы SNEDECOR.

Результаты и их обсуждение

Незначительные изменения органолептических, физико-химических и микробиологических показателей в кашах из корнеплодов, независимо от вида и типа используемой упаковки, связаны с протекающими в них процессами: окислением жиров, меланоидинообразованием и др.

Характеристики органолептических показателей каш из корнеплодов в процессе хранения изменялись, независимо от используемой для хранения упаковки (рис. 2).

Внешний вид сухого продукта: в порошкообразной смеси через 6 месяцев хранения наблюдали присутствие легко рассыпающихся комочков; снижение оценок составило 12,0 %. Через 8 месяцев хранения комочки становились плохо рассыпающимися; снижение составило 18,0 %.

Цвет сухого продукта: каши из корнеплодов репы – желтый, из брюквы – светло-желтый с незначительным количеством темноокрашенных частиц, обусловленных присутствием перловой крупы. В процессе хранения цвет практически не изменялся: потери привлекательности через 6 месяцев хранения составили 6,0 %, через 8 месяцев еще 6,0 %.

Запах и вкус сухого продукта: каши из корнеплодов репы – сладковатые, характерные корнеплодам репы, с оттенками меда и крупы рисовой, из брюквы – сладковатые, характерные корнеплодам брюквы, с оттенками душистого перца и крупы перловой. В процессе хранения запах и вкус теряли свою гармоничность: потери оценок через 6 месяцев хранения составили 6,5 %, через 8 месяцев еще 8,7 %.

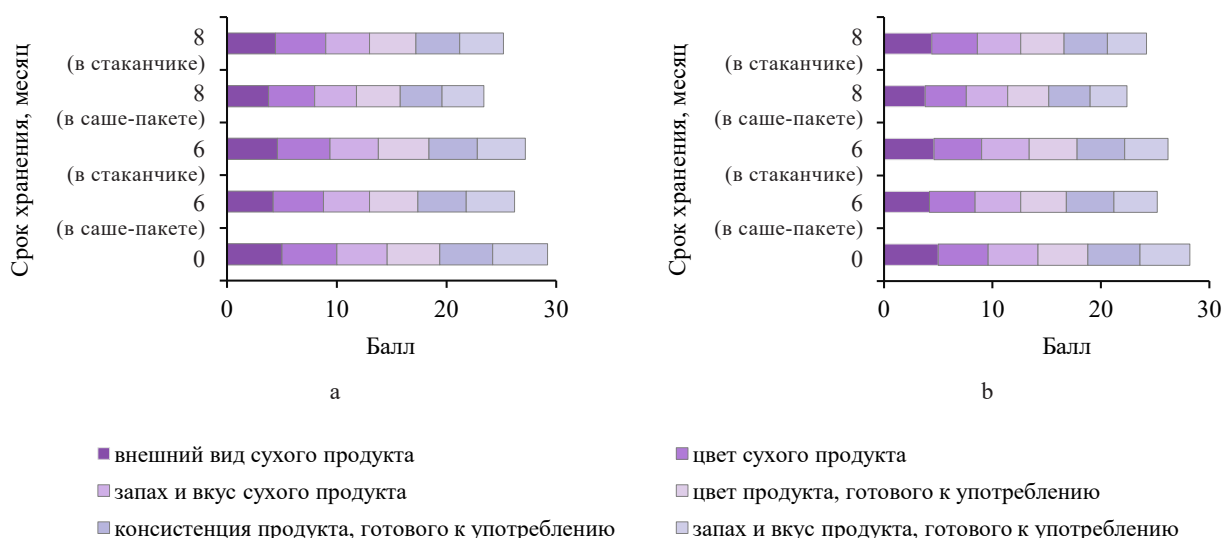


Рисунок 2. Оценка органолептических показателей каши из корнеплодов (а – репа, б – брюква), хранившихся в различных видах упаковки (n = 5)

Figure 2. Sensory profile of instant porridges from root vegetables stored in various types of packaging (n = 5): а – turnip porridge, б – rutabaga porridge

Наибольшим изменениям были подвержены органолептические характеристики продукта, готового к употреблению. Потери оценок за привлекательность цвета через 6 месяцев хранения составили 6,3 %, а через 8 месяцев снизились еще на 8,3 %. Консистенция продукта, готового к употреблению, однородная, вязкая масса без расслоения. Однородность консистенции в процессе хранения снижалась: потери оценок через 6 и 8 месяцев составили 8,3 и 18,8 % соответственно. Запах и вкус готовой к употреблению каши из корнеплодов репы – сладковатые, характерные корнеплодам репы, с оттенками меда и рисовой крупы, из брюквы – сладковатые, характерные корнеплодам брюквы, с оттенками душистого перца и перловой крупы. Интенсивность аромата и привкуса меда натурального или душистого перца в процессе хранения каш из корнеплодов снижалась: потери оценок за данный показатель через 6 и 8 месяцев составили 12,0 и 22,0 % соответственно.

При анализе значимости факторов, влияющих на оценки за органолептические показатели каш из корнеплодов (табл. 2), установлено, что срок хранения (фактор «В») оказывал наибольшее влияние в отличие от упаковки (фактор «А»). Взаимодействие этих факторов имело аддитивный характер, но его значение было минимальным на исследуемые органолептические показатели.

Данные таблицы 3 свидетельствуют о том, что в процессе хранения в различных упаковках физико-химические показатели исследуемых образцов каш практически не изменялись. Исследуемые образцы

каш из корнеплодов содержали различное количество влаги и жира, поскольку в их составе присутствовали разные вкусовые добавки (крупы, мед натуральный, масло растительное). В процессе хранения содержание влаги и жира практически не менялось, независимо от вида упаковки, и находилось в пределах ошибки опыта. С увеличением срока хранения повышалась продолжительность восстановления каши из корнеплодов для получения готового к употреблению продукта: на 15,6 % после 6 месяцев хранения и на 56,8 % после 8 месяцев. Восстанавливаемость через 6 и 8 месяцев хранения лучше на 10,9 и 14,2 % соответственно у каши из корнеплодов, упакованной в стаканчики, по сравнению с образцами в саше-пакетах. Существенное влияние ($p = 0,05$) на физико-химические показатели каши оказывал срок хранения (фактор «В»), а влияние упаковки (фактор «А») было минимальным. Взаимодействие этих факторов практически не влияло на содержание жира и восстанавливаемость продукции, но его можно рассматривать как значимый фактор при изменении содержания влаги.

Присутствие микроорганизмов в продуктах питания может привести как к ухудшению качества, так и к порче. Микрофлора сырья растительного происхождения включает бактерии, дрожжи и плесени, поэтому каши из корнеплодов в процессе хранения обладают повышенным риском микробной контаминации. В результате исследований (табл. 4) установлено, что количество мезофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов

Таблица 2. Значимость факторов, влияющих на оценку за органолептические показатели каши из корнеплодов

Table 2. Variables that affect the sensory quality of instant porridge from root vegetables

Фактор	Каша из корнеплодов	Органолептический показатель					
		Внешний вид сухого продукта	Цвет сухого продукта	Запах и вкус сухого продукта	Цвет готового к употреблению продукта	Консистенция готового к употреблению продукта	Запах и вкус готового к употреблению продукта
Влияние факторов, %							
«А» (вид упаковки)	Репы	26,54	14,29	10,10	3,23	6,62	0
	Брюквы	16,63	6,20	0	3,86	0	0
«В» (срок хранения)	Репы	56,98	47,14	71,72	84,09	87,07	96,47
	Брюквы	54,49	67,44	90,00	82,24	88,79	90,84
Взаимодействие факторов «АВ»	Репы	9,61	17,14	6,06	0	0,90	0
	Брюквы	22,32	13,95	0	0	0	0
НСР _{0,5} % (при $p = 0,05$)*							
«А» (вид упаковки)	Репы	18,2	18,2	20,0	19,2	14,1	14,1
	Брюквы	18,2	16,3	16,3	20,0	20,0	20,0
«В» (срок хранения)	Репы	28,0	28,0	30,7	29,5	21,7	21,7
	Брюквы	28,0	25,1	25,1	30,7	30,7	30,7
Взаимодействие факторов «АВ»	Репы	0	0	0	0	0	0
	Брюквы	0	0	0	0	0	0

*НСР – наименьшая существенная разница.

*НСР – least significant difference.

Таблица 3. Физико-химические показатели каш из корнеплодов, хранившихся в различных видах упаковки

Table 3. Physicochemical parameters of instant porridges from root vegetables in various types of packaging

Вид упаковки (фактор «А»)	Срок хранения, месяц (фактор «В»)	Массовая доля влаги, %	Массовая доля жира, %	Восстанавливаемость, с
Каша из корнеплодов репы**				
Без упаковки	0	5,7 ± 0,1	0,6 ± 0,1	145 ± 3
Саше-пакет	6	5,8 ± 0,1	0,6 ± 0,1	170 ± 5
	8	5,8 ± 0,1	0,5 ± 0,1	245 ± 8
Стаканчик	6	5,7 ± 0,1	0,6 ± 0,1	153 ± 4
	8	5,8 ± 0,1	0,5 ± 0,1	230 ± 7
Влияние факторов, %		«А» = 0; «В» = 24,40; «АВ» = 48,89	«А» = 0; «В» = 47,83; «АВ» = 0	«А» = 2,82; «В» = 92,63; «АВ» = 4,07
НСР _{0,5} , %*		«А» = 10,00; «В» = 15,30; «АВ» = 0; при $p = 0,05$	«А» = 10,00; «В» = 15,30; «АВ» = 0; при $p = 0,05$	«А» = 49,96; «В» = 76,70; «АВ» = 0; при $p = 0,05$
Каша из корнеплодов брюквы**				
Без упаковки	0	5,3 ± 0,1	7,5 ± 0,1	150 ± 4
Саше-пакет	6	5,4 ± 0,1	7,5 ± 0,1	187 ± 7
	8	5,4 ± 0,1	7,4 ± 0,1	239 ± 10
Стаканчик	6	5,3 ± 0,1	7,5 ± 0,1	172 ± 5
	8	5,4 ± 0,1	7,5 ± 0,1	211 ± 9
Влияние факторов, %		«А» = 0; «В» = 14,29; «АВ» = 28,57	«А» = 5,97; «В» = 49,25; «АВ» = 0	«А» = 7,72; «В» = 89,06; «АВ» = 2,48
НСР _{0,5} , %*		«А» = 10,00; «В» = 15,30; «АВ» = 0; при $p = 0,05$	«А» = 9,10; «В» = 14,00; «АВ» = 0; при $p = 0,05$	«А» = 48,43; «В» = 74,37; «АВ» = 0; при $p = 0,05$

*НСР – наименьшая существенная разница; **Минеральные, металлические и посторонние примеси, а также зараженность вредителями хлебных запасов (норма не более 0,01 %, не более 3×10^{-4} %, не допускаются соответственно) не обнаружены.

*НСР – least significant difference; **Harmful minerals, metals, foreign impurities, and grain infestation did not exceed the permissible norm of $\leq 0.01\%$, $\leq 3 \times 10^{-4}\%$, and 0%, respectively.

Таблица 4. Микробиологические показатели каши из корнеплодов, хранящейся в различных видах упаковки

Table 4. Microbiological indicators of instant porridge from root vegetables stored in various types of packaging

Вид упаковки (фактор «А»)	Срок хранения, месяц (фактор «В»)	Количество мезофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов, КОЕ/г
Норма (ТР ТС 021/2011)		не более 5×10^4
Каша из корнеплодов репы**		
Без упаковки	0	нет роста
Саше-пакет	6	$3,1 \times 10^2$
	8	$6,2 \times 10^4$
Стаканчик	6	$0,91 \times 10^2$
	8	$1,09 \times 10^4$
Влияние факторов, %		«А» = 13,93; «В» = 44,69; «АВ» = 41,28
НСР _{0,5} , %*		«А» = 13,30; «В» = 20,50; «АВ» = 0; при $p = 0,05$
Каша из корнеплодов брюквы**		
Без упаковки	0	нет роста
Пакет	6	$2,4 \times 10^2$
	8	$2,3 \times 10^4$
Стаканчик	6	$0,91 \times 10^2$
	8	$1,6 \times 10^4$
Влияние факторов, %		«А» = 2,84; «В» = 87,65; «АВ» = 7,70
НСР _{0,5} , %*		«А» = 24,80; «В» = 38,10; «АВ» = 0; при $p = 0,05$

*НСР – наименьшая существенная разница; **Дрожжи, плесени, *Bacillus cereus*, бактерии группы кишечных палочек (колиформы), патогенные, в т. ч. сальмонеллы (норма (ТР ТС 021/2011) – не более 50, 100 и 200 КОЕ/г; не допускаются в 1,0 и 50 г продукта соответственно) не обнаружены.

*НСР – least significant difference; **Yeast, mold, *Bacillus cereus*, coliform bacteria, and pathogenic microorganisms remained within permissible levels/were not detected.

увеличилось при хранении каш из корнеплодов, независимо от вида используемой упаковки. Герметично-запаиваемые упаковки из комбинированных материалов способствовали прекращению развития в кашах из корнеплодов микроорганизмов порчи – плесневых грибов и дрожжей, спорообразующих бактерий *Bacillus cereus*, санитарно-показательных бактерий группы кишечных палочек (колиформы) и патогенных микроорганизмов, в т. ч. сальмонелл, из-за минимального содержания в них воздуха и отсутствия возможности диффузии через упаковочный материал. Количество мезофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов в каше, упакованной в стаканчики, меньше, по сравнению с образцами в саше-пакетах, в 11,0 и 3,2 раза через 6 и 8 месяцев хранения соответственно. Установлено, что существенное влияние на микробиологическую обсемененность каш из корнеплодов оказывал срок хранения (фактор «В»), низкое – вид упаковки (фактор «А»). Взаимодействие этих факторов практически не влияло на количество мезофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов в кашах из корнеплодов брюквы (7,70 %), но оно было значимо в продукции из репы (41,28 %).

Выводы

На основании проведенных исследований выявлено, что наибольшее влияние на характеристики качества пищевых концентратов (каш из корнеплодов, не требующих варки) оказывала продолжительность хранения, наименьшее – вид упаковки. Взаимодействие этих факторов имело аддитивный характер и оказывало влияние на органолептические показатели. На содержание жира и восстанавливаемость каш влияние было минимальным. Практи-

чески отсутствовало влияние на количество мезофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов в каше из корнеплодов брюквы, но было значимо в продукции из корнеплодов репы. По результатам исследования установлен срок годности разработанных пищевых концентратов расфасованных в саше-пакеты или стаканчики из комбинированных материалов – 6 месяцев. Предлагаемые пищевые концентраты могут быть использованы различными потребителями с целью получения новых гастрономических впечатлений и обеспечения организма необходимыми пищевыми компонентами в туристических походах, экспедициях и пр. Дальнейшие исследования перспективны в направлении изучения влияния других видов и типов упаковки на качество пищевых концентратов из корнеплодов.

Критерии авторства

О. К. Мотовилов руководил работой. Все авторы принимали участие в исследованиях, обработке данных и написании текстов.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Contribution

O.K. Motovilov supervised the research. All the authors contributed equally to the research, data processing, and manuscript.

Conflict of interest

The authors declare that there is no conflict of interest regarding the publication of this article.

References/Список литературы

1. Tatarova SP, Zateeva NA. Trends of changes in the Mongolian national cuisine of the trans-border region. Theory and Practice of Social Development. 2022;172(6):29–36. (In Russ.). <https://doi.org/10.24158/tpor.2022.6.3>
2. Britwum K, Demont M. Food security and the cultural heritage missing link. Global Food Security. 2022;35. <https://doi.org/10.1016/j.gfs.2022.100660>
3. Kapelari S, Alexopoulos G, Moussouri T, Sagmeister KJ, Stampfer F. Food heritage makes a difference: The importance of cultural knowledge for improving education for sustainable food choices. Sustainability. 2020;12(4). <https://doi.org/10.3390/su12041509>
4. Musa SFPD, Chin WL. The role of farm-to-table activities in agritourism towards sustainable development. Tourism Review. 2021;77(2):659–671. <https://doi.org/10.1108/TR-02-2021-0101>
5. Samaddar A, Cuevas RP, Custodio MC, Ynion J, Ray (Chakravarti) A, Mohanty SK, et al. Capturing diversity and cultural drivers of food choice in eastern India. International Journal of Gastronomy and Food Science. 2020;22. <https://doi.org/10.1016/j.ijgfs.2020.100249>
6. Pavlovskaya AV. From the history of Russian cuisine. Part 1. The cuisine we “lost”? Nutrition. 2016;6(1):54–61. (In Russ.). <https://doi.org/10.20953/2224-5448-2016-1-54-61>
7. Shamtsyan M, Kiprushkina E, Bogueva D. Eastern European food cultures and traditions. In: Bogueva D, Golikova T, Jäkobson I, Shamtsyan M, Jakobsons M, editors. Nutritional and health aspects of traditional and ethnic foods of Eastern Europe. A volume in nutritional and health aspects of traditional and ethnic foods. Academic Press; 2022. pp. 1–12. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-811734-7.00002-5>

8. Pavlovskaya AV. From the history of Russian cuisine. Part 4. Troubles and successes of Russian cuisine. Nutrition. 2016;6(4):4–16. (In Russ.). <https://doi.org/10.20953/2224-5448-2016-4-47-52>
9. Myachikova N, Shamtsyan M. Culinary traditions, food, and eating habits in Russia. In: Bogueva D, Golikova T, Jākobsone I, Shamtsyan M, Jakobsons M, editors. Nutritional and health aspects of traditional and ethnic foods of Eastern Europe. A volume in nutritional and health aspects of traditional and ethnic foods. Academic Press; 2022. pp. 13–38. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-811734-7.00006-2>
10. Egorova OA. Gastronomic traditions in Russian folk tales: from the past to the present. Scientific Notes of the National Society of Applied Linguistics. 2021;33(1):43–52. (In Russ.). [Егорова О. А. Гастрономические традиции в русских народных сказках: из прошлого в настоящее // Ученые записки национального общества прикладной лингвистики. 2021. Т. 33. № 1. С. 43–52.]. <https://www.elibrary.ru/SIXGNA>
11. Pokhlebkina VV. National cuisines of Russia's peoples. Moscow: Tsentrpoligraf; 2004. 638 p. (In Russ.). [Похлебкина В. В. Национальные кухни наших народов. М.: Центрполиграф, 2004. 638 с.].
12. Lipinskaya V. The food of Russian urban inhabitants in XVIII–XX centuries (traditions and Ioan). Revista de Etnologie și Culturologie. 2014;16:23–26.
13. Shatnyuk LN, Vrhessinskaya OA, Kodentsova VM, Matveeva AE. Prospects for increasing the vitamin value of food concentrates: Bouillon cubes. Food Processing: Techniques and Technology. 2020;50(2):296–305. (In Russ.). <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2020-2-296-305>
14. Egorova EYu, Reznichenko IYu. Development of food concentrate – semi-finished product with amaranth flour for gluten-free cupcakes. Food Processing: Techniques and Technology. 2018;48(2):36–45. (In Russ.). <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2018-2-36-45>
15. Morozova SS, Bakumenko OE, Tarasova VV. Technology of kissel concentrates using natural sweeteners. Food Industry. 2020;(6):13–18. (In Russ.). <https://doi.org/10.24411/0235-2486-2020-10058>
16. Statsenko ES, Kodirova GA. Development of recipes for enriched food concentrates for the second course using multivariate analysis. Achievements of Science and Technology in Agro-Industrial Complex. 2021;35(4):72–76. (In Russ.). <https://doi.org/10.24411/0235-2451-2021-10412>
17. Kulikov DS, Kolpakova VV, Ulanova RV, Chumikina LV, Bessonov VV. Biological processing of pea grain and secondary starch raw materials to produce food and feed protein concentrates. Biotechnology in Russia. 2020;36(4):49–58. (In Russ.). <https://doi.org/10.21519/0234-2758-2020-36-4-49-58>
18. Skripko OV, Statsenko ES, Pokotilo OV. Recipes development and quality evaluation of food concentrate “Buckwheat porridge” with higher nutritional and biological value. Food Processing: Techniques and Technology. 2018;48(1):125–131. (In Russ.). <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2018-1-125-131>
19. Nevzorov VN, Bezyazykov DS, Kokh ZhA, Matskevich IV, Oleinikova EN. Oats grain grinding technology development for food concentrate production. Bulletin of KSAU. 2021;174(9):208–213. (In Russ.). <https://doi.org/10.36718/1819-4036-2021-9-208-213>
20. Korneva LYa, Koptyaeva IS, Korolev AA. Method of instant food from peas production. Russia patent RU 2683864C1. 2019. [Способ получения продукта быстрого приготовления из гороха: пат. 2683864C1 Рос. Федерация. № 2018102874 / Корнева Л. Я., Коптяева И. С., Королев А. А.; заявл. 25.01.2018; опубл. 02.04.2019. 4 с. Бюл. № 10.].
21. Makarov VN, Akimov MYu, Vlazneva LN, Kol'tsov VA. Method for production of mushes with girasol. Russia patent RU 2541402C1. 2015. [Способ производства каш с топинамбуром: пат. 2541402C1 Рос. Федерация. № 2013141384/13 / Макаров В. Н. [и др.]; заявл. 09.09.2013; опубл. 10.02.2015. 5 с. Бюл. № 4.].
22. Bauer A-S, Leppik K, Galic K, Anastopoulos I, Panayiotidis MI, Agriopoulou S, *et al.* Cereal and confectionary packaging: Background, application and shelf-life extension. Foods. 2022;11(5). <https://doi.org/10.3390/foods11050697>
23. Serna-Saldivar SO. Packaging of snack foods. In: Serna-Saldivar SO, editor. Snack foods. Processing, innovation, and nutritional aspects. Boca Raton: CRC Press; 2022. pp. 83–112. <https://doi.org/10.1201/9781003129066>
24. Ebrahimi Monfared K, Gharachorloo M, Jafarpour A, Varvani J. Effect of storage and packaging conditions on physicochemical and bioactivity of matcha-enriched muesli containing probiotic bacteria. Journal of Food Processing and Preservation. 2022;46(10). <https://doi.org/10.1111/jfpp.16878>
25. Benjakul S, Pisuchpen S, O'Brien N, Karanjanapratum S. Effect of antioxidants and packing conditions on storage stability of cereal bar fortified with hydrolyzed collagen from seabass skin. Italian Journal of Food Science. 2018;31(2):347–346. <https://doi.org/10.14674/IJFS-1211>
26. Glebova SYu, Golub OV. Quality evaluation of fresh rutabaga. Food Processing: Techniques and Technology. 2017;44(1):100–104. (In Russ.). [Глебова С. Ю., Голуб О. В. Оценка качества свежей брюквы // Техника и технология пищевых производств. 2017. Т. 44. № 1. С. 100–104.]. <https://www.elibrary.ru/YNFIEP>
27. Stepanova AG, Davydenko NI, Golub OV, Stepanova EN. Effect of storage methods on various sorts of Siberian turnip (*Brassica rapa* L.). Food Processing: Techniques and Technology. 2020;50(3):470–479. (In Russ.). <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2020-3-470-479>

<https://doi.org/10.21603/2074-9414-2023-4-2479>
<https://elibrary.ru/XOJSEC>

Оригинальная статья
<https://fptt.ru>

Определение анионов неорганических кислот в спиртных дистиллированных напитках методом капиллярного электрофореза с кондуктометрическим детектированием



Н. В. Шелехова*^{ORCID}, И. М. Абрамова^{ORCID}, Т. М. Шелехова^{ORCID}

Всероссийский научно-исследовательский институт пищевой биотехнологии^{ORCID}, Москва, Россия

Поступила в редакцию: 07.12.2022

Принята после рецензирования: 31.03.2023

Принята к публикации: 04.04.2023

*Н. В. Шелехова: 4953610101@mail.ru,

<https://orcid.org/0000-0001-7735-2942>

И. М. Абрамова: <https://orcid.org/0000-0001-9297-0554>

Т. М. Шелехова: <https://orcid.org/0000-0003-3851-4034>

© Н. В. Шелехова, И. М. Абрамова, Т. М. Шелехова, 2023



Аннотация.

Спиртные дистиллированные напитки производят во многих странах мира, в том числе и в России. Совершенствование научно-практических основ контроля качества и безопасности таких напитков на базе современных инструментальных методов анализа является актуальной задачей. Несмотря на объем экспериментальных и теоретических исследований, направленных на определение химического состава спиртных напитков, данная область остается мало изученной. Цель работы – исследовать и экспериментально подтвердить перспективность метода капиллярного электрофореза для определения анионов в спиртных напитках.

Объектами исследования являлись модельные растворы и 30 образцов спиртных дистиллированных напитков, приобретенных путем случайной выборки в розничной торговой сети. Аналитические исследования проводили на системе капиллярного электрофореза PrinCE 560, оснащенной кондуктометрическим детектором.

В результате исследования подобрали параметры электрофоретического анализа, которые обеспечивают селективное качественное и количественное определение 5 целевых аналитов за 9 мин. Разработали состав буферного раствора и установили оптимальные соотношения электролитов: 30 мМоль/дм³ L-Histidine и 30 мМоль/дм³ 2-(N-Morpholino) ethanesulfonic acid Monohydrate. Выявили корреляционную зависимость площади пика от массовой концентрации для целевых аналитов в диапазоне 0,1–10 мг/дм³. Экспериментально подтвердили применимость предложенного подхода для качественного и количественного определения хлорид-, нитрат-, сульфат-, фторид- и фосфат-ионов для идентификации виски, рома, текилы, самогона, зерновых и ромовых дистиллятов. Сравнительный анализ качественного и количественного состава анионов образцов виски различного географического происхождения показал, что все исследованные образцы содержат хлориды в диапазоне массовых концентраций 0,22–52,74 мг/дм³, нитраты 0,60–0,06 мг/дм³, сульфаты 0,25–17,59 мг/дм³ и фосфаты 0,75–12,70 мг/дм³.

Результаты исследования могут стать основой для разработки метрологически аттестованной методики качественного и количественного определения состава анионов органических и неорганических кислот в спиртных дистиллированных напитках.

Ключевые слова. Дистилляты, капиллярный электрофорез, идентификация, анионы, кондуктометрическое детектирование, виски, ром, самогон, текила, импортозамещение

Финансирование. Исследование проведено за счет средств субсидии на выполнение государственного задания (тема № FGMF 2022006).

Для цитирования: Шелехова Н. В., Абрамова И. М., Шелехова Т. М. Определение анионов неорганических кислот в спиртных дистиллированных напитках методом капиллярного электрофореза с кондуктометрическим детектированием // Техника и технология пищевых производств. 2023. Т. 53. № 4. С. 796–806. <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2023-4-2479>

Inorganic Acid Anions in Distilled Alcoholic Beverages: Capillary Electrophoresis with Conductometric Detection



Nataliya V. Shelekhova*, Irina M. Abramova, Tamara M. Shelekhova

All-Russian Scientific Research Institute of Food Biotechnology, Moscow, Russia

Received: 07.12.2022
Revised: 31.03.2023
Accepted: 04.04.2023

*Nataliya V. Shelekhova: 4953610101@mail.ru,
<https://orcid.org/0000-0001-7735-2942>
Irina M Abramova: <https://orcid.org/0000-0001-9297-0554>
Tamara M. Shelekhova: <https://orcid.org/0000-0003-3851-4034>

© N.V. Shelekhova, I.M. Abramova, T.M. Shelekhova, 2023



Abstract.

Distilled alcoholic drinks are popular all over the world. Monitoring the quality and safety of such drinks requires modern instrumental methods. Chemical composition of alcoholic beverages has become focus of numerous experimental and theoretical publications. However, this area remains understudied. This research provided an experimental confirmation of the capillary electrophoresis as a prospective method for determining anions in alcoholic beverages.

The study involved model solutions and 30 samples of distilled alcoholic beverages purchased by random sampling from a retail chain. The chemical analysis relied on a PrinCE 560 capillary electrophoresis system equipped with a conductometric detector. The study revealed the working parameters for electrophoretic analysis that provided a selective qualitative and quantitative test of five target analytes in 9 min. The optimal composition of the buffer solution and the optimal electrolyte ratios were 30 mmol/dm³ L-Histidine and 30 mmol/dm³ 2-(N-Morpholino) ethanesulfonic acid Monohydrate. The correlation between the peak area and the mass concentration was at 0.1–10 mg/dm³ for the target analytes. The approach proved effective in determining chloride, nitrate, sulfate, fluoride, and phosphate ions in whiskey, rum, tequila, moonshine, grain, and rum distillates. The study also included a comparative analysis of the qualitative and quantitative anion profiles in whiskey samples from different countries. All the samples contained 0.22–52.74 mg/dm³ chlorides, 0.60–0.06 mg/dm³ nitrates, 0.25–17.59 mg/dm³ sulfates, and 0.75–12.70 mg/dm³ phosphates.

Research prospects include a metrologically certified method to identify the anion composition of organic and inorganic acids in distilled alcoholic beverages.

Keywords. Whiskey, capillary electrophoresis, distillates, identification, anions, rum, samogon, tequila, conductometric detection, import substitution

Funding. The research was part of state task No. FGMF 2022006.

For citation: Shelekhova NV, Abramova IM, Shelekhova TM. Inorganic Acid Anions in Distilled Alcoholic Beverages: Capillary Electrophoresis with Conductometric Detection. Food Processing: Techniques and Technology. 2023;53(4):796–806. (In Russ.). <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2023-4-2479>

Введение

Спиртные дистиллированные напитки производят во многих странах мира, в том числе и в России [1–5]. Рынок алкогольной продукции в нашей стране представлен разнообразным ассортиментом, в котором важное место занимают такие крепкие алкогольные напитки, как водка, коньяк, самогон, ром, текила и виски. Розлив виски с использованием дистиллятов иностранного производства получил широкое распространение на отечественных предприятиях алкогольной отрасли. Однако в рекламе это позиционируется как производство российского виски. Поэтому

в последнее время производители России начали проявлять заинтересованность в производстве отечественных крепких дистиллированных напитков, таких как виски.

Преимуществом организации полного цикла производства виски в нашей стране является наличие зернового сырья и ресурсов, позволяющих производить продукцию высокого качества и с хорошими органолептическими характеристиками [6]. Это создает условия для быстрого наращивания темпа выпуска необходимых для удовлетворения потребностей населения объемов виски.

Ситуация, связанная с введением санкций, требует проведения мероприятий по импортозамещению и развитию отечественного производства. Так как российские производители имеют нужные ресурсы, то они могут производить крепкие алкогольные напитки, которые расширят ассортимент продукции. Это поможет усилить и стабилизировать российский рынок алкоголя [7–9]. Интенсификация производства дистиллированных алкогольных напитков позволит решить задачу импортозамещения и удовлетворить потребности населения в недорогой, качественной и безопасной алкогольной продукции. Данное направление согласуется с задачами государственных программ: Стратегией повышения качества пищевой продукции РФ до 2030 г., Программой развития сельского хозяйства и регулирования рынков сельскохозяйственной продукции, сырья и продовольствия до 2025 г. и Долгосрочном прогнозе социально-экономического развития сельского хозяйства РФ до 2036 г.

При учете сложности и многокомпонентности состава крепких алкогольных напитков необходимо разрабатывать и внедрять в практику промышленных предприятий инструментальные методы анализа, которые обеспечивают контроль показателей качества и безопасности выпускаемой продукции [10]. Совершенствование научно-практических основ контроля качества и безопасности алкогольной продукции на базе современных инструментальных методов анализа выведет уровень производства на новую ступень развития [11, 12].

Ионный состав спиртных напитков имеет значение. В результате многолетних исследований учеными ВНИИПБТ разработан производственно-технологический регламент ПТР 10-1292-99, содержащий рекомендации по концентрациям анионов и катионов [13]. Однако влияние ионного состава на органолептические характеристики и стойкость при хранении спиртных дистиллированных напитков мало изучено. Недостаточная разработанность методик для установления анионного состава крепких дистиллированных напитков является сдерживающим фактором при проектировании их производства [1, 12, 13].

Из многообразия инструментальных методов анализа, используемых в аналитической практике для мониторинга микроэлементного состава жидких многокомпонентных сред, следует выделить метод капиллярного электрофореза, который приобретает популярность за счет низкой стоимости анализа, экспрессности, высокой точности и малого объема пробы [14–16]. Информация о микроэлементном составе сырья даст возможность направленно регулировать качественные показатели выпускаемой алкогольной продукции на всех этапах технологической обработки [17].

Реализация мер, направленных на повышение качества испытаний алкогольной продукции, стала предпосылкой для разработки новых инструменталь-

ных методик определения анионного состава алкогольных и безалкогольных напитков. Например, методика М 04-79-2013 (ФР.1.31.2013.14659) предназначена для измерений методом капиллярного электрофореза с УФ-детектированием массовой концентрации хлорид-, сульфат- и нитрат-ионов в соках и соковой продукции, винах и винодельческой продукции (включая коньячные дистилляты), пиве и продуктах пивоварения, водках и ликероводочных изделиях. Однако данная методика не позволяет определять фторид- и фосфат-ионы.

Таким образом, вышеказанное подтверждает и актуализирует необходимость проведения углубленных исследований в области создания аналитических методик, которые базируются на применении метода капиллярного электрофореза для изучения микроэлементного состава дистиллированных спиртных напитков.

Цель исследования – выявить и обосновать целесообразность разработки методики определения анионного состава алкогольной продукции, оценить аналитические возможности метода капиллярного электрофореза для определения анионов неорганических кислот в спиртных дистиллированных напитках и получить экспериментальное подтверждение перспективности методики путем опробования на реальных объектах.

Объекты и методы исследования

Объектами исследования являлись искусственные модельные смеси, включающие хлорид-, нитрат-, сульфат-, фторид- и фосфат-ионы с заданной массовой концентрацией 0,1, 1,0, 5,0 и 10 мг/дм³, а также 30 образцов виски, рома, текилы, самогона, зерновых и ромовых дистиллятов. При приготовлении модельных и градуировочных растворов использовали реактивы квалификации х.ч. с содержанием основного вещества не менее 99,0 % (Sigma-Aldrich) и особую чистую воду для HPCE с электропроводностью 0,5 мкС/см³ при температуре 20 °С (Agilent Technologies, Part No. 5062-8578). Аналитические определения для каждой пробы проводили с дву-трехкратным повторением.

Исследование проводили методом капиллярного электрофореза по методике, разработанной в ходе данной работы. Кондуктометрический детектор калибровали методом абсолютной градуировки по искусственным смесям. Использовали систему капиллярного электрофореза PrinCE 560 (Prince Technologies B.V., Нидерланды) с автосэмплером на 30/48-позиций и кондуктометрическим детектором с пределом детектирования 1×10^{-10} г/см³ (сведения о поверке № 14-03-2022-139-941252). Принцип действия системы капиллярного электрофореза заключается в разделении анализируемой пробы в кварцевом капилляре под действием электрического поля из-за различной подвижности ионов и последующем детектировании кондуктометрическим детектором.

Управление системой капиллярного электрофореза осуществляли при помощи персонального компьютера посредством специализированного программного обеспечения WPrince Version 7.1. Данное программное обеспечение обеспечивает контроль и установку режимных параметров системы: температуру капилляра и давление с уровнем защиты программного обеспечения «С» в соответствии с МИ 3286-2010. Для промывки капилляра использовали раствор гидроокиси натрия молярной концентрации 1,0 моль/дм³. Обработку графических результатов проводили с применением программного обеспечения UniChromTM, версия 5.0.2.859 (Беларусь). Статистическую обработку результатов экспериментов проводили в соответствии с рекомендациями ГОСТ ИСО 5725-6-2003.

Все необходимые взвешивания проводили на аналитических весах непрямого действия GR200 (Япония) с погрешностью взвешивания не более $\pm 0,0003$ г. (сведения о поверке № 12-05-2022-155103577). Для дозирования применяли микродозаторы одноканальные с переменным объемом 0,1–1,0 и 1,0–5,0 см³. Для приготовления водно-спиртовых растворов использовали спирт этиловый ректифицированный из зернового сырья по ГОСТ 5962-2013.

Результаты и их обсуждение

Минеральный состав дистиллированных алкогольных напитков определяется минеральным составом воды и дистиллятов, применяемых в производстве. Исследованиям в данном векторе посвящены работы Т. И. Гугучкиной, Л. М. Джанполодяна, З. Н. Кишковского, А. Д. Лашхи, Э. Я. Мартыненко, В. М. Малтобара, Л. А. Оганесянца, И. В. Оселедцевой, Н. Т. Семененко, И. М. Скурихина, М. С. Чаво, Ю. Ф. Якубы и других ученых [18, 19]. Ученые установили, что анионный состав влияет на потребительские свойства спиртных напитков, в том числе на стабильность при хранении. Несмотря на большой объем экспериментальных и теоретических исследований, направленных на определение химического состава спиртных напитков, данная область остается недостаточно изученной.

На первом этапе исследования, направленного на систематизацию и анализ материалов научных источников, выявлена недостаточная разработанность современных методик анализа для проведения всесторонних и полных исследований химического состава алкогольной продукции. Отечественная аналитическая база в достаточной мере не обладает инструментальными методиками, позволяющими экспрессно, селективно и с высокой степенью достоверности устанавливать анионный состав алкогольных напитков. Обозначенная проблема может быть решена за счет мероприятий по разработке и внедрению новых методик анализа. Например, для анализа анионного состава виски. Разработка новых спосо-

бов анализа анионного состава приведет к упрощению и упорядочению процедур не только входного контроля качества сырья, но и готовой продукции, а также будет способствовать решению задачи интенсификации и оптимизации производства спиртных напитков.

Содержание растворенных веществ и отдельных микроэлементов может оказывать как положительное, так и негативное влияние на органолептические характеристики напитков. Например, хлориды в умеренных концентрациях создают мягкие тона послевкусия, нитраты придают неприятный горьковатый привкус, сульфаты создают устойчивую горечь во вкусе, фосфаты формируют кислый либо неприятный мыльный привкус в зависимости от концентрации [13]. Кроме того, химический состав влияет на стабильность напитков при хранении [13].

Таким образом, на основании анализа литературного обзора мы сформировали перечень аналитов, подлежащих идентификации. Установлено, что наибольший научный и практический интерес представляет определение анионов неорганических кислот: хлорид-, нитрат-, сульфат-, фторид- и фосфат-ионов.

Среди перспективных для решения поставленной задачи хроматографических методов был выбран метод капиллярного электрофореза. В целях технической реализации предлагаемого решения выбрали систему капиллярного электрофореза PrinCE 560 с кондуктометрическим детектированием, которая положительно зарекомендовала себя в исследованиях химического состава пищевой продукции.

Основная цель следующего этапа исследования заключалась в подборе оптимальных параметров работы системы капиллярного электрофореза. Эксперимент по подбору режимов проводили с применением модельных растворов, которые готовили с использованием чистых веществ. В поисках лучших условий электрофоретического анализа варьировали напряжение на источнике, температуру термостатирования капилляра и проб, давление ввода пробы и другие параметры (табл. 1).

Подготовку капилляра перед анализом проводили по следующей схеме: промывка раствором NaOH, деионизованной водой и буферным электролитом. Каждую стадию проводили в течение 10 мин. По окончании работы капилляр последовательно промывали деионизованной водой и раствором NaOH в течение 10 мин для каждой стадии. Затем концы капилляра погружали в парковочные вials, заполненные деионизованной водой.

Экспериментальным путем подобрали базовый состав рабочего электролита и установили начальные соотношения: 30 мМоль/дм³ L-Histidine и 30 мМоль/дм³ 2-Morpholinoetha-nesulfonic acid Monohydrate. Приготовление модельных и рабочих растворов проводили при температуре окружающей среды 23 ± 2 °С. Стабильность нулевой линии

Таблица 1. Условия электрофоретического анализа

Table 1. Electrophoretic analysis conditions

Параметр	Интервал варьирования	Шаг	Подобранные параметры
Ввод пробы	Гидродинамический, электрокинетический	–	Гидродинамический
Напряжение на источнике	20–30 кВ	5 кВ	+25 кВ
Детектирование	Кондуктометрическое		Кондуктометрическое
Температура кварцевого капилляра	15–40 °С	5 °С	25 °С
Температура поддона с буферными образцами	15–25 °С	5 °С	25 °С
Давление ввода пробы	10–50 мБар	10 мБар	30 мБар
Время ввода пробы	10–100 с	5 с	25 с
Время анализа	1–10 мин	1 мин	7 мин
Длина капилляра	50–120 см	10 см	60 см
Промывка капилляра между вводами пробы	1–10 мин	1 мин	2 мин
Промывка капилляра перед работой	Буферный электролит, 1М раствора NaOH, деионизованная вода	1 мин	NaOH 10 мин, деионизованная вода 10 мин, рабочий электролит 10 мин
Промывка капилляра после работы	Буферный электролит, NaOH, деионизованная вода	1 мин	NaOH 10 мин, деионизованная вода 10 мин
Состав буферного электролита	L-Histidine, 2-Morpholinoethanesulfonic acid Monohydrate	–	30 мМоль/дм ³ L-Histidine, 30 мМоль/дм ³ 2-Morpholinoethanesulfonic acid Monohydrate

проверяли, пропуская через кварцевый капилляр рабочий электролит. В ходе исследований экспериментально подтвердили стабильность нулевой линии на протяжении 20 мин.

В целях выявления корреляционной зависимости анализировали модельные водно-спиртовые растворы, содержащие 0,1, 1,0, 5,0 и 10 мг/дм³ хлоридов, нитратов, сульфатов, фторидов и фосфатов. Свежеприготовленные модельные растворы анализировали с дву-трехкратным повторением. Результаты единичных определений получали в одинаковых условиях с соблюдением выполнения условия приемлемости. Относительное расхождение между двумя параллельными определениями при доверительной вероятности $P = 0,95$ не превышало 15–20 %.

Для построения градуировочной зависимости мы применили специализированное программное обеспечение, которое входит в состав системы капиллярного электрофореза. На оси абсцисс откладывали концентрацию вещества в модельном растворе, по оси ординат – соответствующее усредненное значение площади пиков, полученных при параллельных измерениях. Экспериментально подтверждено, что градуировочные зависимости являются линейными во всем исследуемом диапазоне концентраций (рис. 1).

Анализируя полученные данные (рис. 1), можно сделать вывод о том, что градуировочные графики линейны в интервале концентраций от 0,1 до 10,0 мг/дм³. В ходе исследований найдена парная корреляционная зависимость R^2 не менее 0,99 меж-

ду массовой концентрацией и площадью пика для целевых компонентов модельных растворов. Значение коэффициента корреляции R^2 для хлоридов составило 0,999621, для нитратов – 0,999479, для сульфатов – 0,999352, для фторидов – 0,999214, для фосфатов – 0,998822.

В ходе работ определили порядок выхода, установили времена миграции целевых компонентов и рассчитали некоторые метрологические характеристики. Правильность определения оценивали методом «введено – найдено», сходимости рассчитывали по результатам двух параллельных определений, внутрилабораторную прецизионность – по результатам, полученным в течение двух дней. Установлено, что предложенный способ определения анионов неорганических кислот характеризуется правильностью и воспроизводимостью. Экспериментально подтверждено, что разработанная методика характеризуется приемлемыми валидационными характеристиками. Границы относительной погрешности методики определения ионов неорганической природы в спиртных дистиллированных напитках в диапазоне концентраций от 0,1 до 10 мг/дм³ составляют не более 20 %.

Несмотря на высокую разделительную способность капиллярного электрофореза, качественный анализ близкорасположенных пиков может вызывать затруднения при идентификации и проведении количественного анализа. На рисунке 2 представлена электрофореграмма модельного раствора анионов неорганических кислот: хлоридов, нитратов, сульфа-

тов, фторидов и фосфатов массовой концентрацией 10 мг/дм³ каждый. Электрофореграмму получили при использовании подобранных параметров (табл. 1).

Установлено, что дрейф нулевой линии, размывание или случаи неполного разделения пиков отсутствуют, пики симметричны, полнота разделения близкорасположенных пиков хлорид- и нитрат-ионов достаточная. Полученная электрофореграмма пригодна для качественной и количественной оценки целевых ионов. Таким образом, результатом первоначальной серии экспериментов стали подобранные условия электрофореза, обеспечивающие селективное качественное и количественное определение 5 целевых аналитов за 9 мин в модельных растворах (табл. 1). Исходя из анализа полученных экспериментальных данных, можно сделать заключение о перспективности развития данного вектора исследований.

Дальнейшие исследования направлены на изучение аналитических возможностей предлагаемой

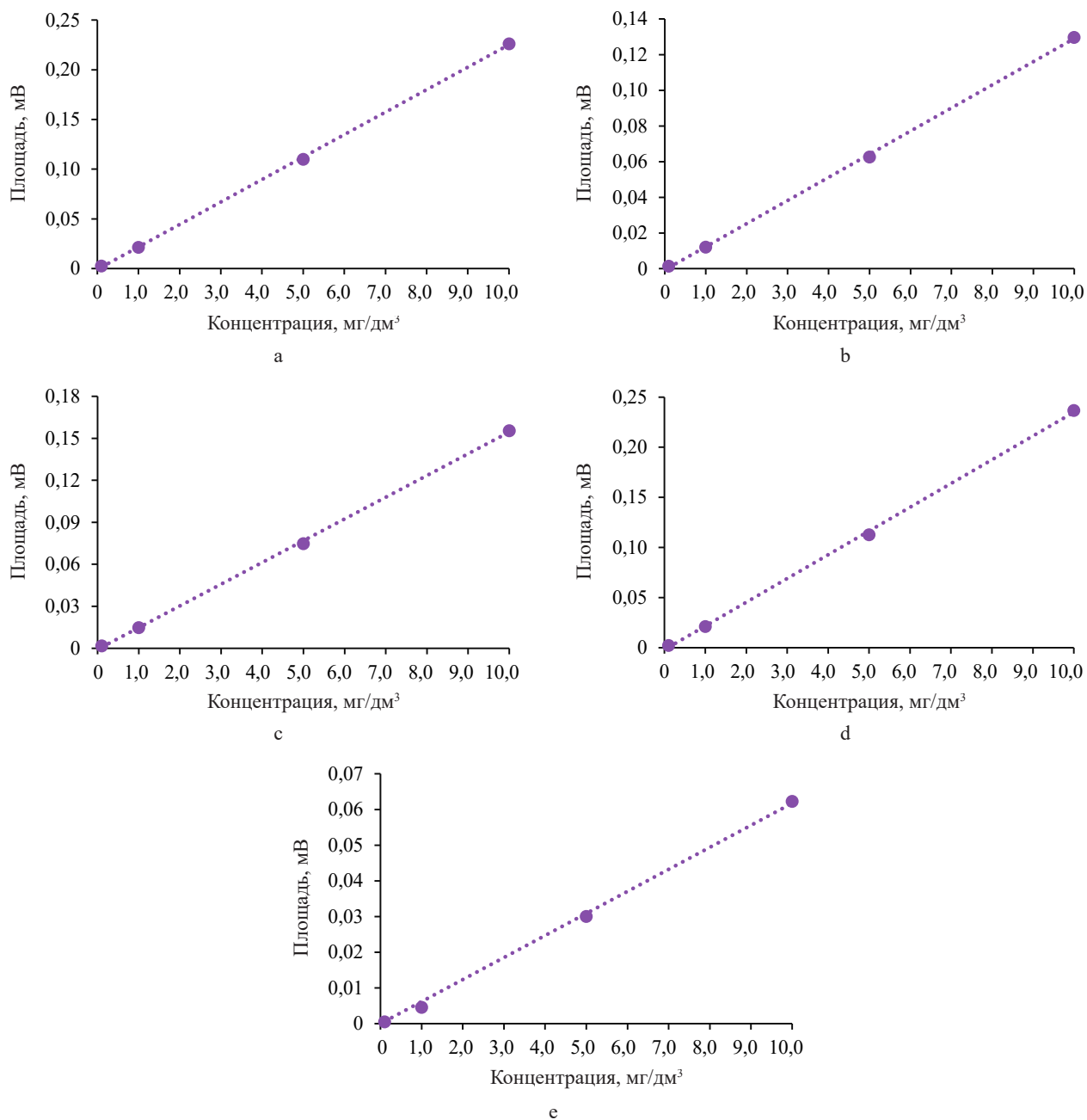
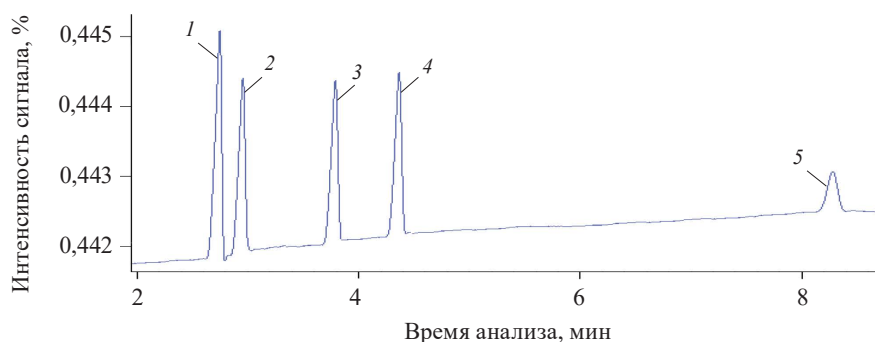


Рисунок 1. Градуировочные графики для хлоридов (а), нитратов (б), сульфатов (с), фторидов (д) и фосфатов (е) в диапазоне концентраций от 0,1 до 10 мг/дм³

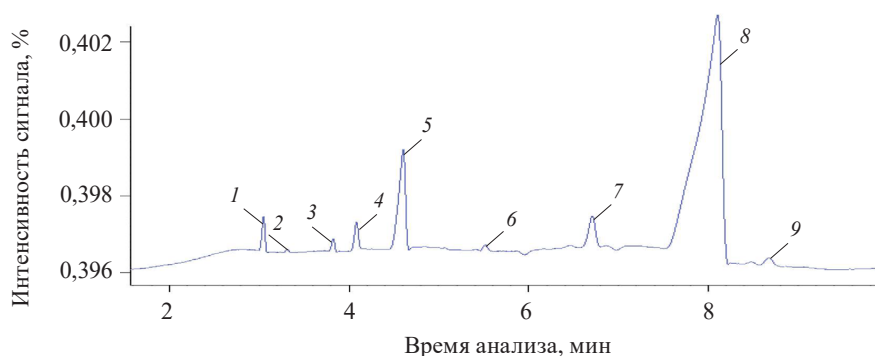
Figure 1. Calibration curves for chlorides (a), nitrates (b), sulfates (c), fluorides (d), and phosphates (e) at 0.1–10 mg/dm³



1 – хлорид-ион, 2 – нитрат-ион, 3 – сульфат-ион, 4 – фторид-ион, 5 – фосфат-ион

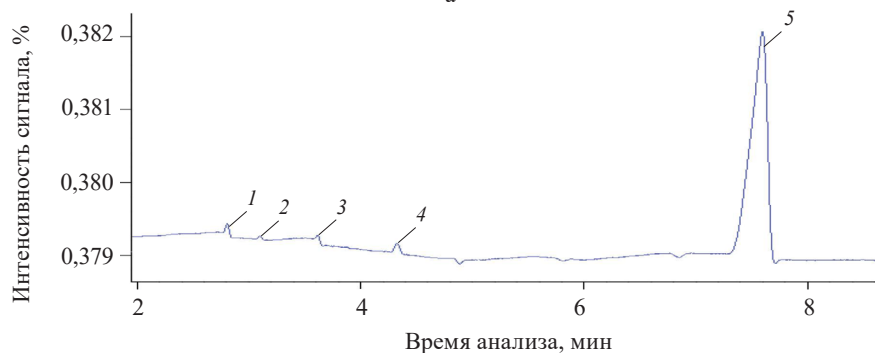
Рисунок 2. Электрофореграмма модельного раствора

Figure 2. Model solution electropherogram



1 – хлорид-ион, 2 – нитрат-ион, 3 – сульфат-ион, 4 – фторид-ион, 5, 6, 7 и 8 – неидентифицированные пики, 9 – фосфат-ион

a



1 – хлорид-ион, 2 – нитрат-ион, 3 – сульфат-ион, 4 и 5 – неидентифицированные пики

b

Рисунок 3. Электрофореграмма образцов виски (a) и самогона (b)

Figure 3. Electropherogram: whiskey (a), moonshine (b)

методики на примере испытаний 30 реальных образцов спиртных дистиллированных напитков: виски, рома, чачи, самогона, текилы, ромовых и зерновых дистиллятов. Полученные результаты свидетельствуют о применимости разработанной методики для изучения анионного состава алкогольных напитков. Экспериментально подтверждено, что состав матрицы дистиллированных спиртных на-

питков не оказывает негативного влияния на идентификацию целевых аналитов (рис. 3).

На электрофореграммах зафиксировано присутствие неидентифицированных пиков. Данный факт указывает на присутствие неизвестных аналитов в анализируемых пробах (рис. 3). На основании анализа основных хроматографических параметров неидентифицированных пиков (площадь пиков и

Таблица 2. Результаты исследования анионного состава спиртных дистиллированных напитков

Table 2. Anionic composition of distilled alcoholic beverages

Идентифицированный компонент, мг/дм ³	Виски	Ром	Чача	Самогон	Текила	Зерновой дистиллят	Ромовый дистиллят
Хлориды	0,22 ± 0,04	4,57 ± 0,91	52,74 ± 10,55	2,14 ± 0,43	0,50 ± 0,10	1,83 ± 0,36	1,03 ± 0,21
Нитраты	0,50 ± 0,10	н/о	0,40 ± 0,08	0,62 ± 0,12	0,06 ± 0,12	0,18 ± 0,04	0,08 ± 0,02
Сульфаты	3,44 ± 0,69	0,25 ± 0,05	17,59 ± 3,52	1,38 ± 0,27	0,86 ± 0,17	3,51 ± 0,70	н/о
Фториды	0,09 ± 0,02	н/о	0,020 ± 0,004	н/о	н/о	н/о	н/о
Фосфаты	1,85 ± 0,37	н/о	7,79 ± 1,56	29,73 ± 5,94	н/о	0,75 ± 0,15	12,70 ± 2,54

н/о – не обнаружено.

н/о – not detected

времена миграции), а также научных данных об анионном составе спиртных дистиллированных напитков выдвинуто предположение о том, что некоторые анионы органических кислот, такие как оксалат-, формиат-, фумарат-, тартрат-, малат- и цитрат-ионы, могут быть зарегистрированы в подобранных условиях. Гипотеза носит вероятностный характер и требует проведения дополнительных исследований в данном направлении.

В результате серии проведенных опытов установили возможность качественного и количественного определения состава анионов неорганических кислот в спиртных дистиллированных напитках методом капиллярного электрофореза с кондуктометрическим детектированием (табл. 2).

Хлорид-ионы идентифицированы во всех исследованных образцах с массовой концентрацией в диапазоне 0,22–52,74 мг/дм³. Наибольшее содержание хлоридов обнаружено в образце чачи, наименьшее – в виски. Нитрат-ионы в малых концентрациях найдены во всех образцах, кроме рома. Максимальное содержание нитратов (0,6 мг/дм³) обнаружено в образце самогона, минимальное (менее 0,1 мг/дм³) – в текиле. Сульфат-ионы массовой концентрацией 0,25–7,59 мг/дм³ выявлены во всех образцах, кроме ромового дистиллята. Фторид-ионы в незначительных концентрациях (менее 0,1 мг/дм³) обнаружены в образцах виски и чачи. Фосфат-ионы массовой концентрацией 0,75–12,70 мг/дм³ найдены в 50 % образцов.

Анализ полученных экспериментальных данных показал, что в анионном составе исследованных спиртных дистиллированных напитков преобладают фосфаты, хлориды и сульфаты, доля нитратов и фторидов менее значительна. Соотношение целевых аналитов к сумме идентифицированных анионов в исследованных образцах отображено на рисунке 5.

Установлено, что по отношению к сумме идентифицированных анионов неорганических кислот доля хлорид-ионов варьировалась от 7 до 95 %, доля нитрат-ионов – от 1 до 11 %, сульфат-ионов – от 5 до 61 %, фторид-ионы обнаружены лишь в

2 образцах и составляли менее 1 %, фосфат-ионы – от 10 до 92 %. Повышенное содержание фосфатов в образце рома может служить индикатором введения дополнительного фосфорного питания для дрожжей в ходе технологического процесса сбраживания мелассы. Более низкие концентрации фосфатов, обнаруженные в спиртных дистиллированных напитках, можно объяснить внесением в почву фосфорных удобрений. Содержание фторидов в воде варьируется в зависимости от климата и географических условий. Поэтому наличие фторидов может являться маркером географического происхождения. Таким образом, анализ и интерпретация полученных данных позволили сделать вывод о перспективности дальнейших исследований в данном направлении.

В ходе экспериментальных исследований проведен сравнительный анализ анионного состава виски различного географического происхождения. Результаты количественного и качественного анализа, полученные в ходе эксперимента, после первичной статистической обработки приведены в таблице 3.

Как видно из таблицы 3, все исследованные образцы виски содержат хлориды, массовая концентрация которых колеблется в диапазоне 0,86–19,25 мг/дм³, сульфаты наблюдали в диапазоне 0,38–34,79 мг/дм³. Большинство образцов содержит фосфаты (0,50–4,39 мг/дм³) и единичный образец фторидов (9,61 мг/дм³). Максимальное содержание хлорид-ионов (18,25 мг/дм³) обнаружено в образце виски производства Ирландии, нитратов (1,47 мг/дм³) в образце из Шотландии, сульфатов (34,79 мг/дм³) в образце из России, фторидов (9,61 мг/дм³) и фосфатов (5,07 мг/дм³) в образце из США.

Сравнительный анализ массовых концентраций идентифицированных анионов неорганических кислот виски IBEX (Россия) не выявил существенных отличий от остальных образцов. Однако следует отметить высокое содержание сульфатов (34,79 мг/дм³) в образце виски Praskoveyskiy (Россия). Сульфаты в малых количествах придают напиткам гармоничный привкус, но в концентрациях 35–40 мг/дм³ могут создавать устойчивую горечь. В данном случае, вероятнее

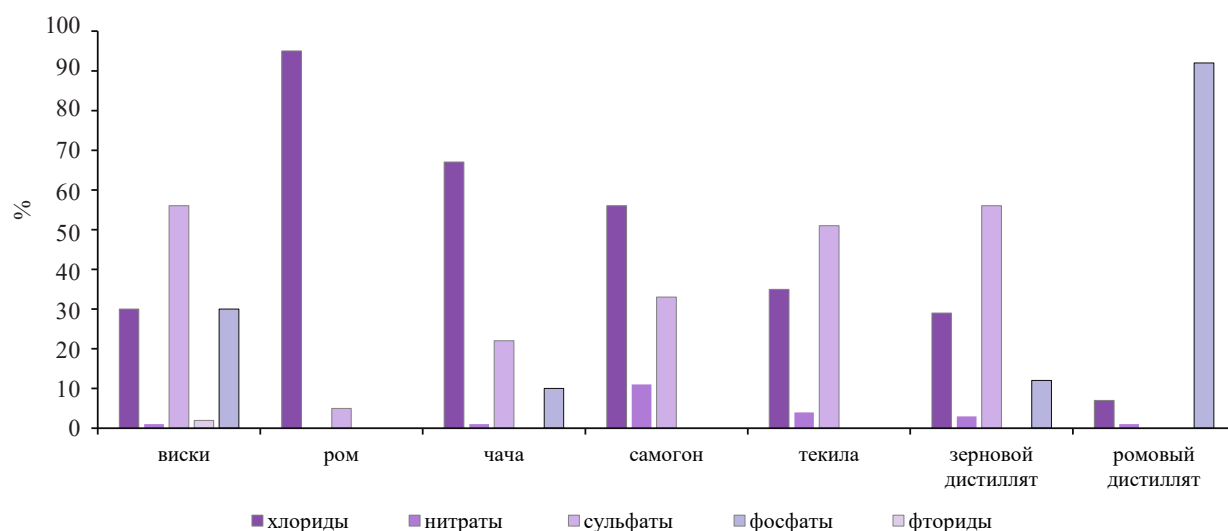


Рисунок 5. Соотношение целевых аналитов к сумме идентифицированных анионов, %

Figure 5. Target analytes vs. total identified anions, %

Таблица 3. Результаты исследования образцов виски различного географического происхождения

Table 3. Whiskey samples from different countries

Идентифицированный компонент, мг/дм ³	Виски							
	Шотландия		Ирландия		США		Россия	
	Scottish Land	Glenrothes	Jameson	Lambay	Jefferson's	Jack Daniels	Praskoveyskiy	IBEX
Хлориды	1,67 ± 0,30	2,65 ± 0,48	1,15 ± 0,21	18,25 ± 3,29	3,01 ± 0,54	0,86 ± 0,15	4,11 ± 0,74	3,65 ± 0,66
Нитраты	1,47 ± 0,26	0,47 ± 0,08	0,59 ± 0,11	3,33 ± 0,60	0,33 ± 0,06	н/о	0,63 ± 0,11	1,11 ± 0,20
Сульфаты	0,84 ± 0,15	11,74 ± 2,11	0,38 ± 0,07	8,57 ± 1,54	3,91 ± 0,70	0,81 ± 0,15	34,79 ± 6,26	4,36 ± 0,78
Фториды	н/о	н/о	н/о	н/о	н/о	9,61 ± 1,73	н/о	н/о
Фосфаты	0,94 ± 0,17	4,39 ± 0,79	н/о	н/о	2,99 ± 0,54	5,07 ± 0,93	0,81 ± 0,15	0,50 ± 0,09

н/о – не обнаружено.

н/о – not detected.

всего, причина высокого содержания сульфатов объясняется особенностями водоподготовки на предприятии. В технологии производства спиртных напитков содержание сульфатов в технологической воде корректируется технологическими приемами. Например, обработкой обратным осмосом. По содержанию остальных анионов значимых отличий не выявлено.

Дрожжи *Saccharomyces cerevisiae* в ходе биотехнологического процесса не только превращают сахара в этанол и диоксид углерода, но и участвуют в образовании соединений серы. Кроме того, некоторые исследователи считают, что перегонка в медном кубе влияет на концентрацию серы и коррелирует со временем контакта дистиллята с медью [20]. Однако имеются сведения о том, что дистилляция может

вызывать как образование, так и снижение уровня летучих веществ серы [21, 22]. Изучение метаболизма штаммов дрожжей, применяемых в технологии виски, температуры брожения и инокуляции дрожжей, технологических процессов перегонки с использованием предлагаемой методики определения состава неорганических анионов приведет к лучшему пониманию механизмов образования различных химических соединений, которые присутствуют в спиртных дистиллированных напитках.

Таким образом, исследованные образцы виски отечественного производства по анионному составу не обладают значительными отличиями от зарубежных аналогов. Поэтому они могут рассматриваться в качестве альтернативного продукта для

удовлетворения потребительского спроса на виски. Наиболее полное использование технологических возможностей по раскрытию производственного потенциала отечественных предприятий, производящих спиртные напитки, актуально в условиях санкций.

Выводы

В ходе работы мы предложили новое техническое решение для определения анионов неорганических кислот в спиртных дистиллированных напитках на основе метода капиллярного электрофореза с кондуктометрическим детектированием. Границы относительной погрешности определения составляют не более 20 %. Экспериментально подтвердили применимость предложенного подхода для определения хлорид-, нитрат-, сульфат-, фторид- и фосфат-ионов в виски, роме, чаче, самогоне, текиле, зерновых и ромовых дистиллятах. Получили новые научные данные об анионном составе спиртных дистиллированных напитков, которые позволяют расширить перечень идентификационных показателей в контроле качества и безопасности алкогольной продукции.

Образцы виски российского производства могут рассматриваться в качестве альтернативного продукта для удовлетворения потребительского спроса на виски.

Критерии авторства

Исследование было задумано, реализовано, проанализировано и описано авторами коллективно. Рукопись вычитана и принята в представленной версии как окончательная всеми авторами.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Contribution

The article represents result of a collective research. The final version of the manuscript was proofread and approved by all the authors.

Conflict of interest

The authors declare that there is no conflict of interest regarding the publication of this article.

References/Список литературы

1. Walker GM, Stewart GG. *Saccharomyces cerevisiae* in the production of fermented beverages. *Beverages*. 2016;2(4). <https://doi.org/10.3390/beverages2040030>
2. Pauley M, Maskell D. Mini-review: The role of *Saccharomyces cerevisiae* in the production of gin and vodka. *Beverages*. 2017;3(1). <https://doi.org/10.3390/beverages3010013>
3. Cabrera-Toledo D, Mendoza-Galindo E, Larranaga N, Herrera-Estrella A, Vásquez-Cruz M, Hernández-Hernández T. Genomic and morphological differentiation of spirit producing *Agave angustifolia* traditional landraces cultivated in Jalisco, Mexico. *Plants*. 2022;11(17). <https://doi.org/10.3390/plants11172274>
4. Terán-Bustamante A, Martínez-Velasco A, Castillo-Girón VM, Ayala-Ramírez S. Innovation and technological management model in the tequila sector in Mexico. *Sustainability*. 2022;14(12). <https://doi.org/10.3390/su14127450>
5. Nikitina SYu, Shahov SV, Pyl'nyj DV, Rudakov OB. Analytical control of the quality of the rectated ethanol, water and alcohol distillates. *Food Industry*. 2018;(6):56–60. (In Russ.). [Аналитический контроль качества ректификованного этанола, водок и спиртовых дистиллятов / С. Ю. Никитина [и др.] // Пищевая промышленность. 2018. № 6. С. 56–60.]. <https://elibrary.ru/XUMWOL>
6. Shelekhova NV, Shelekhova TM, Skvortsova LI, Poltavskaya NV. Gas chromatography-mass spectrometry of volatile organic impurities in whiskey. *Food Processing: Techniques and Technology*. 2022;52(4):787–796. (In Russ.). <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2022-4-2406>
7. Oganesyants LA, Krikunova LN, Dubinina EV, Shvets SD. Evaluation of the fermentation activators use prospects in the technology of corneliancherries distillates. *Polzunovskiy Vestnik*. 2020;(3):24–30. (In Russ.). <https://doi.org/10.25712/ASTU.2072-8921.2020.03.004>
8. Ageyeva NM, Shirshova AA, Tikhonova AN. Influence of alcoholic and malolactic fermentation on the level of biogenic amines in wine. *Food Processing: Techniques and Technology*. 2021;51(3):449–457. (In Russ.). <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2021-3-449-457>
9. Krikunova LN, Dubinina EV, Peschanskaya VA, Ulyanova EV. New nitrogen-containing raw materials in distillate technology. *Food Processing: Techniques and Technology*. 2022;52(1):123–132. (In Russ.). <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2022-1-123-132>
10. Shelekhova NV. Express method to determine volatile organic impurities in alcoholic distilled beverages based on a combination of GC/FID and GC/MSD. *Sorption and Chromatography Processes*. 2022;22(1):58–68. <https://doi.org/10.17308/sorpchrom.2022.22/9021>
11. Shelekhova NV, Shelekhova TM, Skvortsova LI, Poltavskaya NV. Methods gas chromatography, capillary electrophoresis, chromatography-mass spectrometry in analytical control of alcoholic beverages. *Food Industry*. 2021;(9):63–64. (In Russ.). <https://doi.org/10.52653/PPI.2021.9.9.028>

12. Nikitina SYu, Shahov SV, Gordienko AS. Experience in implementing a new technology for the joint production of rectified ethyl alcohol and alcohol distillate from fermented grain raw materials. *Beer and Beverages*. 2020;(4):10–15. (In Russ.). <https://doi.org/10.24411/2072-9650-2020-10037>
13. Burachevskiy II, Vorob'va EV, Zenina GP, Morozova SS. Distillery production technology. Moscow: Pishchepromizdat; 2011. 357 p. (In Russ.). [Технология ликероводочного производства / И. И. Бурачевский [и др.]. М.: Пищепромиздат, 2010. 357 с.].
14. Makeeva DV, Antipova KS, Kartsova LA. Electrophoretic determination of carboxylic acids in blood serum with intracapillary concentration. *Analytics and Control*. 2022;26(1):13–20. (In Russ.). <https://doi.org/10.15826/analitika.2022.26.1.001>
15. Navarro-Abril A, Saurina J, Sentellas S. Simultaneous determination of amino acids and biogenic amines by liquid chromatography coupled to mass spectrometry for assessing wine quality. *Beverages*. 2022;8(4). <https://doi.org/10.3390/beverages8040069>
16. Farsang R, Kovacs Z, Jarvas G, Guttman A. Ultrahigh-sensitivity capillary electrophoresis analysis of trace amounts of nitrate and nitrite in environmental water samples. *Separations*. 2022;9(11). <https://doi.org/10.3390/separations9110333>
17. Rochte JD, Berglund KA. Preliminary studies on the use of reactive distillation in the production of beverage spirits. *Beverages*. 2019;5(2). <https://doi.org/10.3390/beverages5020029>
18. Karyakin AV, Petrosyan TsL, Dzhanpoladyan LM. Mineral composition of cognac barrel wood. *Winemaking and Viticulture of the USSR*. 1972;(4):23–24. (In Russ.). [Карякин А. В., Петросян Ц. Л., Джанполадян Л. М. Минеральный Состав древесины коньячных бочек // Виноделие и виноградарство СССР. 1972. № 4. С. 23–24.].
19. Skurikhin IM. Chemical processes during cognac aging in oak barrels. *Winemaking and Viticulture of the USSR*. 1960;(1):8–15. (In Russ.). [Скурихин И. М. О химических процессах, происходящих при выдержке коньячных спиртов в дубовых бочках // Виноделие и виноградарство СССР. 1960. № 1. С. 8–15.].
20. Harrison B, Fagnen O, Jack F, Brosnan J. The impact of copper in different parts of malt whisky pot stills on new make spirit composition and aroma. *Journal of the Institute of Brewing*. 2011;117(1):106–112. <https://doi.org/10.1002/j.2050-0416.2011.tb00450.x>
21. Wanikawa A, Sugimoto T. A narrative review of sulfur compounds in whisk(e)y. *Molecules*. 2022;27(5). <https://doi.org/10.3390/molecules27051672>
22. Buglass AJ. *Handbook of alcoholic beverages: Technical, analytical and nutritional aspects*. John Wiley & Sons; 2011. 1208 p. <https://doi.org/10.1002/9780470976524>

<https://doi.org/10.21603/2074-9414-2023-4-2480>
<https://elibrary.ru/TFDFSG>

Оригинальная статья
<https://fptt.ru>

Разработка агротехнологии получения посадочного материала, устойчивого к фитофагам и фитопатогенам



Е. А. Дюкова¹, Е. Г. Ульянова²,
М. А. Осинцева^{1,*}, В. А. Крюк¹

¹ Кемеровский государственный университет , Кемерово, Россия

² Сибирский федеральный научный центр агробиотехнологий Российской академии наук,
Краснообск, Россия

Поступила в редакцию: 27.10.2023

Принята после рецензирования: 17.11.2023

Принята к публикации: 05.12.2023

*М. А. Осинцева: k1marial@inbox.ru,

<https://orcid.org/0000-0002-4045-8054>

Е. А. Дюкова: <https://orcid.org/0009-0001-1372-2091>

Е. Г. Ульянова: <https://orcid.org/0000-0002-9154-5238>

В. А. Крюк: <https://orcid.org/0009-0005-5969-948X>

© Е. А. Дюкова, Е. Г. Ульянова, М. А. Осинцева,
В. А. Крюк, 2023



Аннотация.

В рамках проведения лесовосстановления важной проблемой является высокий процент гибели сеянцев на ранних этапах. Классические агротехнологии при возделывании сеянцев с открытой корневой системой в условиях Западно-Сибирского региона не дают нужного эффекта. Поэтому актуальными являются разработка и адаптация технологий создания посадочного материала с закрытой корневой системой повышенной приживаемости.

Объекты исследования – биологические особенности выращивания сеянцев сосны обыкновенной (*Pinus sylvestris* L.) 13 лесосеменного района в условиях питомника, расположенного в Кемеровской области – Кузбассе (Россия). Для проведения опыта по выращиванию сеянцев использовали верховой торф фрезерной заготовки со степенью разложения до 15 %. Уход за сеянцами заключался в предпосевной однократной обработке семян фунгицидами. В период вегетации проводили двукратную обработку против фитофагов и фитопатогенов.

Отработали агротехнологию получения устойчивого к фитофагам и фитопатогенам посадочного материала с закрытой корневой системой. Изучили этапы развития сеянцев сосны обыкновенной (*P. sylvestris*) и эффективность применения пестицидов в контроле численности вредных объектов. Мы провели фитосанитарный мониторинг и профилактические обработки, изучили эффективность применения пестицидов, фунгицидов и инсектицидов. Описали технологию предпосевной обработки семян. Представили особенности этапов вегетации сеянцев сосны обыкновенной. Применение биохимических препаратов Фитоверм в концентрации 0,4 %, Децис профи, Превикур энерджи и Фитоспорин обеспечило снижение вредных объектов. Биологическая эффективность опытных образцов составила 49–53 и 44–50 %.

Проведенные исследования могут быть применены при усовершенствовании технологий выращивания сеянцев сосны обыкновенной (*P. sylvestris*) в лесопитомниках Западно-Сибирского региона с целью улучшения качества посадочного материала.

Ключевые слова. Рекультивация земель, лесовосстановление, сеянцы, закрытая корневая система, фитофаги, фитопатогены

Финансирование. Работа ведется в рамках Распоряжения Правительства Российской Федерации от 11.05.2022 г. №1144-р и комплексной научно-технической программы полного инновационного цикла «Разработка и внедрение комплекса технологий в областях разведки и добычи твердых полезных ископаемых, обеспечения промышленной безопасности, биоремедиации, создания новых продуктов глубокой переработки из угольного сырья при последовательном снижении экологической нагрузки на окружающую среду и рисков для жизни населения» («Чистый уголь – зеленый Кузбасс»); мероприятие 3.1 «Экополигон мирового уровня технологий рекультивации и ремедиации» (соглашение № 075-15-2022-1200 от 28.09.2022 г.).

Для цитирования: Разработка агротехнологии получения посадочного материала, устойчивого к фитофагам и фитопатогенам / Е. А. Дюкова [и др.] // Техника и технология пищевых производств. 2023. Т. 53. № 4. С. 807–815. <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2023-4-2480>

Agricultural Technology for Phytophage and Phytopathogen Resistant Planting Material



Evgenia A. Dyukova¹, Ekaterina G. Ulyanova²,
Maria A. Osintseva^{1,*}, Victoria A. Kryuk¹

¹ Kemerovo State University , Kemerovo, Russia

² Siberian Federal Scientific Center of Agro-BioTechnologies of the Russian Academy of Sciences,
Krasnoobsk, Russia

Received: 27.10.2023

Revised: 17.11.2023

Accepted: 05.12.2023

*Maria A. Osintseva: k1marial@inbox.ru,

<https://orcid.org/0000-0002-4045-8054>

Evgenia A. Dyukova: <https://orcid.org/0009-0001-1372-2091>

Ekaterina G. Ulyanova: <https://orcid.org/0000-0002-9154-5238>

Victoria A. Kryuk: <https://orcid.org/0009-0005-5969-948X>

© E.A. Dyukova, E.G. Ulyanova, M.A. Osintseva, V.A. Kryuk, 2023



Abstract.

Many seedlings die early during reforestation. Traditional bareroot technologies often fail in Western Siberia. As a result, containerized technologies have become relevant as they provide higher survival rate in the harsh climatic conditions.

The study traced the development of Scots pine (*Pinus sylvestris* L.) seedlings grown in a container nursery in the Kemerovo Region. The milled high-moor peat had a degree of decomposition of $\leq 15\%$. The seeds were treated with fungicides before planting. The seedlings underwent a double treatment against phytophages and phytopathogens during growth.

The article introduces a new agricultural technology for ball-rooted planting stock resistant to phytophages and phytopathogens. The study revealed the developmental stages of pine seedlings and the effect of pesticides on pathogen count. After phytosanitary monitoring and preventive treatments, the seedlings were tested for the effectiveness of pesticides, fungicides, and insecticides as part of pre-planting seed treatment. Such biochemical preparations as Fitoverm (0.4%), Decis Pro, Previkur Energy, and Fitosporin increased the survival rate of the test seedlings. The biological effectiveness of the experimental treatment was 49–53 and 44–50%.

The technology was able to improve the survival rate of pine seedlings in forest container nurseries in the harsh climate of West Siberia.

Keywords. Land reclamation, reforestation, seedlings, closed root system, phytophages, phytopathogens

Funding. The study was part of Russian Federation Government Decree No. 1144-r, May 11, 2022, and a comprehensive scientific innovative program on New technologies in coal mining and processing: industrial safety and bioremediation, new products of deep coal processing, and reducing the environmental burden and hazards to populations (Clean Coal – Green Kuzbass); Stage 3.1: Ecological test-site of world-class reclamation and remediation technologies (Agreement No. 075-15-2022-1200, September 28, 2022).

For citation: Dyukova EA, Ulyanova EG, Osintseva MA, Kryuk VA. Agricultural Technology for Phytophage and Phytopathogen Resistant Planting Material. Food Processing: Techniques and Technology. 2023;53(4):807–815. (In Russ.). <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2023-4-2480>

Введение

Сегодня острыми являются вопросы влияния угольной промышленности на окружающую среду, а именно на водные и земельные ресурсы, атмосферный воздух [1]. По данным Росстата, добыча угля всех сортов в России в январе – июне 2022 г. составила 208 млн т.

Из угледобывающих регионов самым крупным производителем и поставщиком угля является Кемеровская область – Кузбасс. За период январь –

июнь 2022 г. в регионе произведено более половины (51 %) всего добываемого каменного угля в стране, а также 59 % угля коксующихся марок. Также Кузбасс является экспортером российского угля (57,2 %), в том числе для коксования [2]. За все время разработки угольных месторождений в Кузбассе из недр добыто около 9 млрд т угля [3].

В результате добычи угля площадь нарушенных земель составила более 100 тыс. га. В связи с этим приоритетными экологическими задачами в Кеме-

ровской области являются оптимизация существующих и разработка новых прогрессивных технологий восстановления нарушенных ландшафтов, а также их повсеместное внедрение на территории региона [4, 5].

Рекультивация земель является составной частью мероприятий по охране окружающей среды в целом и по нейтрализации разрушительных воздействий промышленности на ландшафт прилегающих территорий в частности. На первых этапах рекультивации важно быстро озеленить отвалы и устранить их негативное влияние на окружающую среду [6]. Полоса насаждений по периметру отвала эффективна лишь при ширине не менее 5 метров [7]. При облесении нарушенных земель вначале применяют посевы почвоулучшающих культур, затем высаживают деревья и кустарники.

Актуальным является лесовосстановление и выращивание лесобразующих пород. При лесопосадках на отвалах в лесной зоне применяют сосну обыкновенную (*Pinus sylvestris* L.), лиственницу сибирскую (*Larix sibirica*), ель обыкновенную или ель европейскую (*Picea abies*), а также другие виды ценных древесных культур. В рамках проведения лесной рекультивации важной проблемой является высокий процент гибели саженцев на ранних этапах. Классические технологии при возделывании семян лесобразующих пород с открытой корневой системой в условиях Западно-Сибирского региона не дают нужного эффекта. Это связано с такими проблемами, как климатические условия резко континентального климата региона, поражение семян с открытой корневой системой фитофагами и фитопатогенами, механические повреждения семян в процессе копki и ограниченные сроки посадки.

Последнее время аграрии уделяют внимание созданию питомников по выращиванию семян хвойных пород с закрытой корневой системой для определенных лесосеменных районов Кемеровской области – Кузбасса. Связано это с изменениями традиционных агротехнических приемов при возделывании посадочного материала лесных пород. Саженцы с закрытой корневой системой обладают преимуществами при посадке, поскольку их корневая система является сформированной и не повреждается при пересадке растения, что обеспечивает лучшую приживаемость и адаптацию (Промежуточный отчет по выполнению работ «Разработки технологических решений создания питомника мирового уровня для выращивания хвойных пород деревьев с закрытой корневой системой» (Этап 1)) [8–10].

Агротехника выращивания посадочного материала должна быть основана на знании структуры формирования вегетативных органов растений в течение сезона, динамики накопления сухого вещества и темпа потребления минеральных питательных веществ и необходимых доз и сроков внесения удобрений.

Качество саженцев и рассады характеризуется высотой стебля и его диаметром в шейке корня, образованием почек, длиной корневой системы, степенью развития отдельных частей растения и их соотношением. Важным показателем является отношение малой (физиологически активной) массы корня к массе верхней части. Чем выше данный показатель, тем лучше саженцы приживаются при пересадке и тем быстрее они вступают в период быстрого роста.

Вопросы производства и применения инновационных технологий при возделывании посадочного материала лесобразующих пород в специализированных питомниках актуальны [11]. Технологические операции при выращивании контейнерных растений в условиях закрытого грунта адаптированы к условиям конкретных лесосеменных районов региона. Соблюдение технологического процесса позволит получить качественный посадочный материал.

При выращивании семян сосны обыкновенной (*P. sylvestris* L.) необходимо провести 14-дневную стратификацию семян во влажном песке при температуре 4 °С, а затем протравливание семян фунгицидом на основе действующего вещества (пропамокарб гидрохлорид 530 г/л + фосэтил алюминия 310 г/л в форме пропамокарбфосэтилата). Для выращивания семян лучше использовать специализированную почвенную смесь, которая предназначена для семян хвойных пород. Например, торф фрезерной заготовки. Такая смесь не затрудняет работу механизмов по заполнению субстратов, не ухудшает водный и воздушный режимы для роста корней и не повышает опасность повреждения их удобрениями. Степень разложения предотвращает развитие на поверхности субстрата мхов и маршанции, что может снизить качество семян. Для производства 1 млн семян в промышленном объеме примерный расход торфа составляет до 250 м³.

При выращивании семян хвойных пород рекомендовано использовать специализированные многокассеты. Преимущество данных кассет заключается в том, что корневая система сильно разветвляется и, доходя до щелей в стенках ячеек, подвергается «воздушной обработке», которая способствует образованию активных корневых кончиков, готовых к росту при высадке семян на участок.

В период роста семян в производственных теплицах необходимо поддерживать температурный режим для образования дружных всходов сосны обыкновенной. В период набухания семян и роста семян сосны обыкновенной температурный минимум должны быть в пределах 18–22 °С, влажность на начальном этапе составляет 95 %. После появления всходов влажность в теплице понижается до 80 %. За две недели до перемещения семян на площадку закаливания влажность в теплице понижают до 60 %. Это позволит сеянцам быстрее адаптироваться к климатическим условиям.

При выращивании сеянцев лесобразующих пород полив является неотъемлемой частью процесса. Показателем начала и окончания полива является масса кассеты, которая зависит от вида и степени разложения торфа, его влажности и степени уплотнения в кассетах. Поэтому масса заполненных кассет с нижними и верхними пределами оптимальной влажности для каждой теплицы должна быть определена экспериментальным путем. Засеянные кассеты поливают сразу после переноса их в теплицу. В течение первых 2–3 дней происходит активное поглощение влаги и набухание семян. В это время короткими, но частыми поливами, субстрат нужно полностью насытить влагой по всему объему ячейки. Масса кассеты с субстратом достигает предельного значения (предельная масса кассеты). Однако в период прорастания семян такие интенсивные поливы не допускаются. Полив прекращают, когда масса кассеты достигает величины 90 % предельной массы кассеты. В это время обильные поливы способствуют разжижению поверхности торфа, а после его высыхания – образованию корки, ухудшающей пористость и аэрацию субстрата. Расход воды при поливе на 1 млн сеянцев составил 6000 м³ воды в месяц.

Система внесения минеральных удобрений является важным техническим приемом для выращивания сеянцев. В зависимости от назначения и времени внесения различают основное удобрение, вносимое до посева весной или осенью, и предпосевное, которое вносят во время посева. Также вносят подкормку в период роста растений. В качестве основного удобрения используют органические удобрения.

Во второй половине вегетационного периода сеянцы с закрытой корневой системой переносят на площадку закалывания, где они адаптируются к условиям климата и готовятся к окончанию периода вегетации. Хранение сеянцев осуществляется на площадке под снежным покровом.

Новизна данного исследования заключается в проведении экспериментального мелкоделяночного опыта на территории питомника, расположенного в Кемеровской области. Авторы отработали агротехнологию получения посадочного материала, устойчивого к фитофагам и фитопатогенам и предназначенного для рекультивируемых участков. Проведенные исследования дают возможность рекомендовать выращивание сеянцев сосны обыкновенной с закрытой корневой системой, которое будет направлено на искусственное лесовосстановление.

Цель исследования – изучить этапы развития сеянцев сосны обыкновенной (*Pinus sylvestris* L.) и эффективность применения пестицидов в контроле численности вредных объектов.

Объекты и методы исследования

Исследования проводили в период с 1 апреля по 1 ноября 2023 г. на территории питомника ООО «Зеленый дом» (с. Андреевка, Кемеровская область – Кузбасс).

Объектом исследования являлись биологические особенности выращивания сеянцев сосны обыкновенной (*Pinus sylvestris* L.) 13 лесосеменного района. Посевной материал закупали у производителя семян лесобразующих пород (г. Красноярск). Сбор семян проводился осенью 2022 г.

Для проведения опыта по выращиванию сеянцев использовали верховой торф фрезерной заготовки со степенью разложения до 15 %. Данный субстрат не затрудняет работу механизмов по заполнению субстратов, не ухудшает водный и воздушный режимы для роста корней и не повышает опасность повреждения их удобрениями. Степень разложения предотвращает развитие на поверхности субстрата мхов и маршанции, что может снизить качество сеянцев и сократить затраты на промывку и дезинфекцию кассет.

Торф «Агробалт» (группа компаний «Агробалт Трейд») обладает хорошим водно-воздушным режимом и высокой катионообменной способностью. Это позволяет вносить в него большое количество удобрений, не опасаясь повредить растения и затруднить поглощение ими питательных веществ и воды. Торф данной фирмы соблюдает требования к заготовке, не содержит семян сорных растений и обладает антисептическими свойствами, препятствуя развитию патогенной микрофлоры. Данный торф имеет наименьшую массу, по сравнению с другими видами торфов и компостами, что важно при транспортировке посадочного материала и разноске по лесокультурной площади. В торфе «Агробалт» содержится комплексное удобрение PGmix с микроэлементами, которое равномерно распределяется по всему объему субстрата, а также перлит 15 % от общей массы субстрата.

В процессе выращивания пробной партии сеянцев на территории питомника использовали кассеты РКЛ-81, предназначенные для выращивания сеянцев хвойных пород. Данные кассеты являются основой технологии выращивания сеянцев с закрытой корневой системой. Вертикальные щели и направляющие ребра в стенках ячейки способствуют естественному и правильному развитию корневой системы. Преимущество данной кассеты заключается в том, что корневая система сильно разветвляется и, доходя до щелей в стенках ячеек, подвергается «воздушной обработке», которая способствует образованию активных корневых кончиков, готовых к росту при посадке сеянцев в лес. Боковые щели предотвращают образование недостатка кислорода в торфяном комке в ячейке и выполняют роль дренажа при чрезмерном поливе.

Посев семян в кассеты проводился вручную. Полив кассет осуществлялся шлангом с насадкой фирмы «Гринда», т. к. проводился мелкоделяночный опыт.

Уход за сеянцами с закрытой корневой системой заключался в предпосевной однократной обработке семян фунгицидами. В период вегетации проводили двукратную обработку против фитофагов и фитопатогенов. В качестве препаратов использовали Превикур энерджи, Фитоспорин, Децис профи и Фитоверм 0,4 %.

Превикур энерджи («Bayer») – двухкомпонентный фунгицид на основе действующего вещества 530 г/л пропамокар и 310 г/л фосэтил; выпускается в виде водорастворимого концентрата. Данный препарат обладает высокой биологической эффективностью против комплекса фитопатогенов. Водорастворимый концентрат применяют как протравитель семян и почвогрунтов для вегетирующих культур.

В качестве экологически безопасного фунгицида для предпосевной обработки семян и по вегетации сеянцев сосны применяли Фитоспорин в виде гелеобразной пасты темного цвета («БашИнком»). Основа данной пасты – бактерия рода *Bacillus subtilis* 26Д, титр живых спор и клеток не менее 100 млн/г с добавлением гумата. Препарат универсален, применяется на разных культурах.

Для контроля численности фитофагов использовали химический инсектицид компании «Bayer» Децис профи. Форма препарата – водно-диспергируемые гранулы на основе действующего вещества дельтаметрина 250 г/кг. У Децис профи высокое биологическое действие, что позволяет проводить обработки на широком ассортименте культур.

Результаты и их обсуждение

Перед началом посева хвойных пород необходимо провести ряд мероприятий для благоприятного роста и развития лесообразующих пород с закрытой корневой системой. Первое – подбор лесосеменного районирования для Кемеровской области, второе – проведение стратификации посевного материала.

Стратификация – это агротехнический прием для подготовки семян к посеву. В данном исследовании для стратификации семена сосны обыкновенной (*Pinus sylvestris* L.) помещали в специализированные мешочки, пропускающие влагу и воздух, а затем в пластиковый контейнер. Слой 10 см насыпали заранее прокаленный речной песок и увлажняли. Затем на увлажненный песок помещали мешочки с семенами и полностью засыпали песком и увлажняли. Контейнер закрывают плотно крышкой, чтобы ограничить поступление воздуха и снизить риск пересыхания песка. Затем контейнер помещали в холодильную камеру при температуре не выше 4 °С, песок увлажняли каждые 5 суток. Процесс стратификации для сосны обыкновенной длится 21 день.

После прохождения стратификации семена делили на три варианта опыта: 1 – контроль (семена без обработки); 2 – семена, обработанные Превикур Энерджи; 3 – семена, обработанные биологическим фунгицидом Фитоспорин.

Предпосевная обработка семян необходима для получения устойчивого посадочного материала к полеганию корневой шейки. После предпосевной обработки приступили к посеву в заранее подготовленные кассеты. Семена сосны обыкновенной заделывают в торфяной субстрат на глубину 0,5 см (рис. 1).

Засеянные кассеты поливали сразу после их переноса в теплицу. В течение первых 2–3 дней происходило активное поглощение влаги и набухание семян. В это время короткими, но частыми поливами, субстрат нужно полностью насытить влагой по всему объему ячейки. Масса кассеты с субстратом достигает предельного значения (предельная масса кассеты). Однако в период прорастания семян такие интенсивные поливы не допускаются. Полив прекращают, когда масса кассеты достигает величины 90 % предельной массы кассеты. Обильные поливы способствуют разжижению поверхности торфа, а после его высыхания – образованию корки, ухудшающей пористость и аэрацию субстрата.

Температурный режим для прорастания сеянцев влияет на качество материала. Семена сосны начинают прорастать при температуре субстрата выше 10 °С. Важно, чтобы температура была высокой и в ночное время. Поэтому, в зависимости от срока посева и региональных особенностей климата (ночные заморозки, возврат холодов), в период прорастания семян может понадобиться дополнительный обогрев теплиц, т. к. понижение температуры в ночное время до 8 °С и ниже негативно влияет на всхожесть семян.

В таблице 1 представлены данные температурного режима в теплице в период вегетации сеянцев. Создание и поддержание благоприятного микроклимата в теплице способствовало полной густоте стояния всходов сосны обыкновенной, что считается



Рисунок 1. Предпосевная подготовка кассет

Figure 1. Pre-planting preparation

Таблица 1. Температурный режим в период вегетации сеянцев сосны обыкновенной

Table 1. Temperature mode for growing pine seedlings

Срок после посева, неделя	Дневная температура, °C	Ночная температура, °C	Температура для начала обогрева теплиц, °C	Влажность воздуха в теплице, %
0–1	18–22	20	25	95
1–2	18–22	20	25	80
3–4	18–22	18	25	60



Рисунок 2. Всходы сосны обыкновенной (фаза раскрытия колпачка)

Figure 2. Pine seedlings: grass stage



Рисунок 3. Сеянец сосны обыкновенной первого года

Figure 3. Pine seedlings: bottlebrush phase

благоприятным для своевременного наступления фенологических фаз развития сеянцев первого года.

Этап прорастания начинается с момента посева и до формирования корня и появления ростка. Прорастание и появление всходов обычно происходят в течение 14–21 дней (рис. 2).

С момента появления всходов начинается второй этап – ранняя стадия роста. Продолжительность этой стадии составляет от 4 до 6 недель. В этот период происходит активное формирование корневой системы, включая развитие боковых корней после достижения главным корнем дна ячейки.

Третий этап – фаза активного роста. Этот период характеризуется быстрым увеличением размеров сеянцев: они интенсивно растут в высоту, активно набирают массу и усиленно наращивают хвою. Продолжительность фазы активного роста может различаться, но обычно она занимает от 6 до 18 недель. Это время зависит от таких факторов, как погодные условия (температура, количество солнечных дней) и условия выращивания.

Из рисунка 3 видно, что сеянец сосны полностью сформирован и переходит к заключительной стадии закаливания. В этот период сеянец перенаправляет энергию с роста в высоту на увеличение диаметра стволика и развитие корневой системы. Период закаливания начинается с закладки верхушечной почки. На этот процесс влияют два фактора окружающей среды: понижение температуры и сокращение длительности светового дня.

При выращивании сеянцев необходимо проводить фитосанитарный мониторинг посадочного материала. В исследовании в процессе вегетации проводили контроль численности вредных объектов каждые 14 дней. В период нахождения сеянцев в теплице повреждений фитофагами и фитопатогенами не выявлено. После перемещения сеянцев на площадку закаливания на 10 сутки появились первые признаки поражения паутинным клещом, а через месяц – единичные признаки корневой гнили, которые не превышали экономический порог вредности. В целях проведения профилактических мероприятий в период вегетации было проведено две обработки фунгицидами и инсектицидами. В опыте с пестицидной обработкой применяли как биологические, так и химические препараты для сравнительной оценки биологической эффективности препаратов.

Учет фитофага осуществляли на 405 сеянцах сосны обыкновенной с закрытой корневой системой путем визуального осмотра в день до обработки и через 4 дня после обработки инсектицидами. Обработка растений проводилась во вторую декаду июня по схеме, приведенной в таблице 2.

Сеянцы обрабатывались в теплице в вечернее время в период неактивного солнца, чтобы избежать ожога инсектицидами. Расход рабочей жидкости препаратов в двух вариантах составил 500 л/га.

Эффективность второй обработки выше, чем первой (рис. 4). Это связано с тем, что взрослые особи

Таблица 2. Схема применения инсектицидов на сеянцах сосны обыкновенной

Table 2. Insecticide procedures for pine seedlings

№ п/п	Препарат	Норма применения препарата	Сроки обработки	
			1 обработка	2 обработка
1	Контроль (обработка водой)	–	12.06.23	05.08.23
2	Децис профи	2 г/10 л воды	12.06.23	05.08.23
3	Фитоверм 0,4 %	80 мл/10 л воды	12.06.23	05.08.23

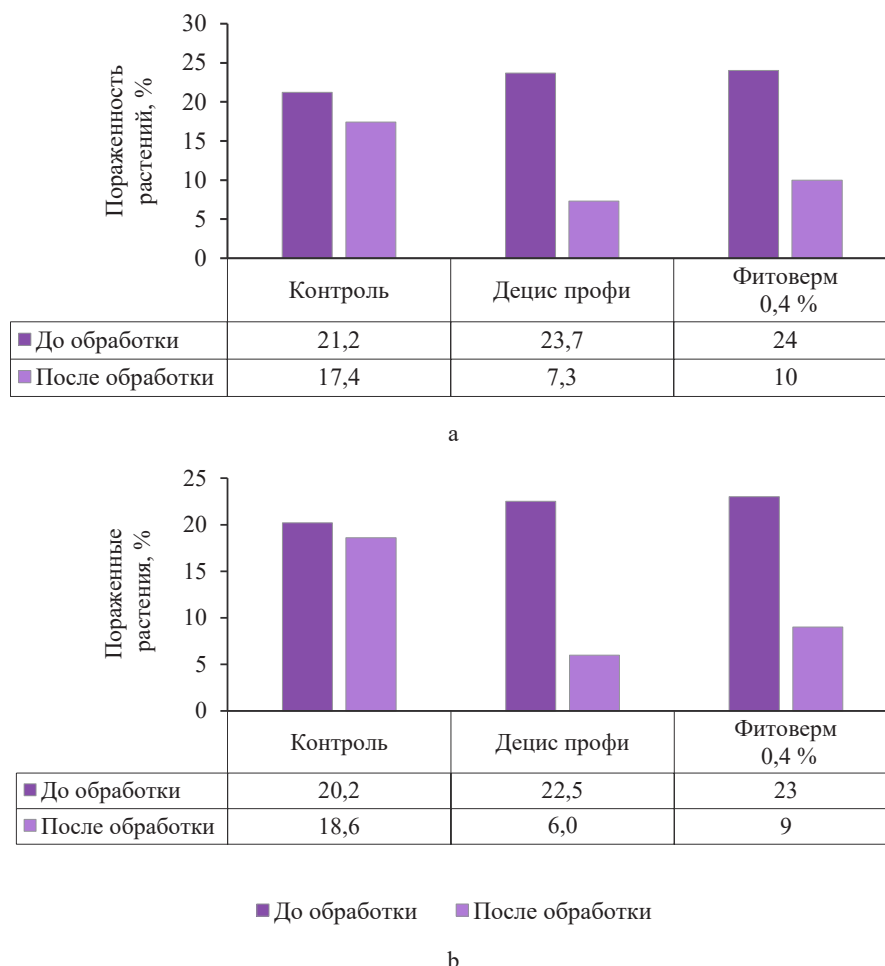


Рисунок 4. Эффективность применения обработки инсектицидов против личинок паутинного клеща: а – первая обработка; б – вторая обработка

Figure 4. Insecticide treatment efficiency against spider mite larvae: a – first treatment; b – second treatment

паутинного клеща не ведут активный образ жизни, процессы развития замедлены и питание прекращается, завершается подготовка к осенне-зимнему периоду. В результате применения препарата Децис профи число пораженных сеянцев снизилось в 2,5 раза, препарата Фитоверм – в 1,3 раза. Биологическая эффективность применения инсектицидов составила 59 и 43 % соответственно.

В результате исследования установлено, что химический препарат Децис профи обладает эффективностью в контроле численности изучаемого фитофага.

В условиях питомника ООО «Зеленый дом» предпочтительно использовать биологический препарат Фитоверм, т. к. он не токсичен. Биологическая эффективность Фитоверма выше контрольного варианта.

Единичные признаки полегания сеянцев сосны обыкновенной были отмечены в третьей декаде мая, когда сеянцы переместились на площадку закаливания. Наличие фитопатогена проявлялось в виде ослабления корневой шейки и ее почернения. Обработка сеянцев сосны проводилась в первых числах июня и августа (табл. 3).

Таблица 3. Схема опыта применения фунгицидов на сеянцах сосны обыкновенной

Table 3. Fungicide procedures for pine seedlings

№ п/п	Препарат	Норма применения препарата	Сроки обработки	
			I обработка	II обработка
1	Контроль (обработка водой)	–	01.06.2023	01.08.2023
2	Превикур Энерджи	15 мл /10 л воды	01.06.2023	01.08.2023
3	Фитоспорин	15 г/10 л воды	01.06.2023	01.08.2023

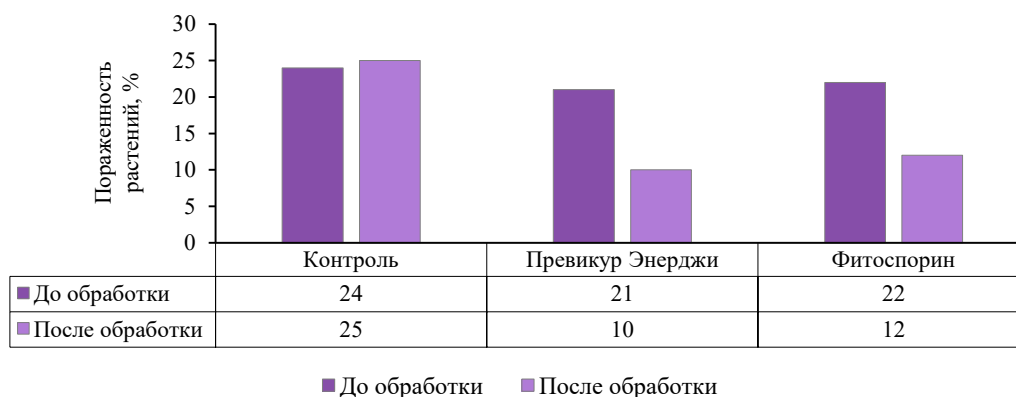


Рисунок 5. Эффективность применения фунгицидов против полегания сеянцев сосны обыкновенной

Figure 5. Fungicide treatment efficiency against lodging

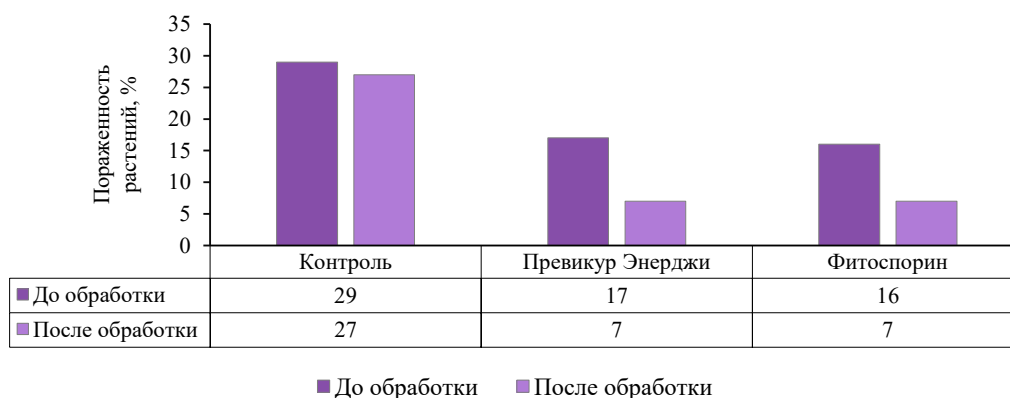


Рисунок 6. Эффективность применения второй обработки фунгицидами

Figure 6. Second fungicide treatment efficiency

Растения обрабатывались в вечернее время суток в сухую безветренную погоду с использованием ручного опрыскивателя Ореон. Расход рабочей жидкости Превикур энерджи – 2000 л/га, Фитоспорина – 500 л/га. В качестве контроля использовали пролитые водой кассеты. Учет распространения и образования новых пораженных сеянцев сосны проводился на 4 сутки после обработки. Результаты представлены на рисунках 5 и 6.

Через 4 дня после обработки провели мониторинг сеянцев сосны обыкновенной в кассетах, после которой степень пораженности патогеном в опыт-

ных кассетах снизилась до 1 балла. На контрольном варианте поражение оставалось высоким – 4 балла.

Таким образом, применение фунгицидов против полегания сеянцев сосны обыкновенной с закрытой корневой системой показало высокую биологическую эффективность в сравнении с контрольным вариантом. Биологическая эффективность препаратов составила 44–50 %. Так как биологическая эффективность фунгицидов высока, то можно рекомендовать применение препаратов Превикур энерджи и Фитоспорин как для профилактики, так и для подавления численности фитопатогена.

Выводы

В ходе проведенных исследований были изучены этапы развития семян сосны обыкновенной (*Pinus sylvestris* L.) с закрытой корневой системой. К основным этапам развития семян первого года можно отнести следующие этапы роста: прорастание, ранняя стадия роста, активная стадия роста и этап закаливания. В процессе выращивания семян проводились фитосанитарный мониторинг и профилактические обработки, изучена эффективность применения пестицидов. В период нахождения семян в теплице поражение вредными объектами не обнаружено. После перемещения семян на площадку закаливания на 10 суток появились первые поражения паутинным клещом и корневой гнилью. В качестве биохимических препаратов применяли инсектициды Фитоверм в концентрации 0,4 % и Децис профи, фунгициды Превикур энерджи и Фитоспорин. Применение пестицидов обеспечило снижение вредных объектов. Биологическая эффективность опытных вариантов составила 49–53 и 44–50 %.

Проведенные исследования могут быть применены при усовершенствовании технологий выращивания семян сосны обыкновенной в лесопитомниках Западно-Сибирского региона с целью улучшения качества посадочного материала.

Критерии авторства

Все авторы принимали участие в исследованиях, обработке данных и написании текстов.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Contribution

All the authors contributed equally to the research, data processing, and manuscript.

Conflict of interest

The authors declare that there is no conflict of interest regarding the publication of this article.

References/Список литературы

1. Harionovsky AA, Kalushev AN, Vaseva VN, Symanova EI. Coal industry ecology: the state, problems, ways of solution. Bulletin of Research Center for Safety in Coal Industry (Industrial Safety). 2018;(2):70–81. (In Russ.). [Экология угольной промышленности: состояние, проблемы, пути решения / А. А. Харионовский [и др.] // Вестник Научного центра по безопасности работ в угольной промышленности. 2018. № 2. С. 70–81.]. <https://www.elibrary.ru/QZWGUJ>
2. Petrenko IE. Russia's coal industry performance for January – June, 2022. Ugol'. 2022;(9):7–22. (In Russ.). [Петренко И. Е. Итоги работы угольной промышленности России за январь – июнь 2022 года / И. Е. Петренко // Уголь. 2022. № 9. С. 7–22.]. <https://www.elibrary.ru/HTDNDB>
3. Kopytov AI, Shaklein SV. Coal resources of Kuzbass as a factor in the choice of industry development strategy. ECO. 2018;48(11):76–83. (In Russ.). <https://doi.org/10.30680/ECO0131-7652-2018-11-76-83>
4. Kupriyanov AN, Kupriyanov OA, Manakov YuA, Shatilov DA. Changes in the productivity of Kuzbass coal enterprises' landfills during the reconstruction of the vegetation cover. International Research Journal. 2022;123(9). (In Russ.). <https://doi.org/10.23670/IRJ.2022.123.33>
5. Kozhevnikov NV, Zaushintsena AV. The problem of topsoil storage in Kuzbass mining industry. Bulletin of Kemerovo State University. 2016;61(1–4):10–14. (In Russ.). <https://www.elibrary.ru/TOLCFD>
6. Sannikov SN, Sannikova NS, Petrova IV. Natural forest regeneration in Western Siberia (ecologice-geographical essay). Yekaterinburg: Ural'skoe otделение RAN; 2004. 198 p. (In Russ.). [Санников С. Н., Санникова Н. С., Петрова И. В. Естественное лесовозобновление в Западной Сибири (эколого-географический очерк). Екатеринбург: Уральское отделение РАН, 2004. 198 с.]. <https://www.elibrary.ru/QKXBEF>
7. Sedykh VN. Forest forming process. Novosibirsk: Nauka; 2009. 162 c. (In Russ.). [Седых В. Н. Лесообразовательный процесс. Новосибирск: Наука, 2009. 162 с.].
8. Smolonogov EP, Zalesov SE. Ecological and forestry principles of organization and management in the cedar forests of the Urals and the West Siberian Plain. Yekaterinburg: Ural State Forest Engineering University; 2002. 186 c. (In Russ.). [Смоногов Е. П., Залесов С. Е. Эколого-лесоводственные основы организации и ведения хозяйства в кедровых лесах Урала и Западно-Сибирской равнины. Екатеринбург: Уральский государственный лесотехнический университет, 2002. 186 с.]. <https://www.elibrary.ru/VZKMTN>
9. Morozov GF. Forest studies. Moscow; Leningrad: Goslesbumizdata; 1949. 456 p. (In Russ.). [Морозов Г. Ф. Учение о лесе. М.; Ленинград: Гослесбумиздата, 1949. 456 с.].
10. Nesterov VG. Basic forestry. Moscow; Leningrad: Goslesbumizdat; 1954. 656 c. (In Russ.). [Нестеров В. Г. Основы лесоводства. М.; Ленинград: Гослесбумиздата, 1954. 656 с.].
11. Vityaz SN, Dyukova EA, Isenev NE. Species diversity and occurrence of harmful objects on various coniferous plants in the conditions of the Kemerovo region. Modern technologies in agricultural production and education: Proceedings of the XI International Scientific and Practical Conference in foreign languages. Kemerovo: Kuzbass State Agricultural Academy; 2020. p. 20–24. <https://www.elibrary.ru/AIQDGR>

<https://doi.org/10.21603/2074-9414-2023-4-2481>
<https://elibrary.ru/WZWMPU>

Оригинальная статья
<https://fptt.ru>

Применение нейросетевых технологий для прогнозирования состояния работы объектов предприятий АПК



А. В. Грачев

Сибирский государственный индустриальный университет , Новокузнецк, Россия

Поступила в редакцию: 07.06.2023

Принята после рецензирования: 28.06.2023

Принята к публикации: 04.07.2023

А. В. Грачев: grachev_av@list.ru

© А. В. Грачев, 2023



Аннотация.

Сегодня активно ведется цифровизация объектов и производственных процессов АПК. Актуальным является поиск унифицированных подходов для применения цифровых технологий в АПК. Популярность нейросетевых методов обусловлена их результативностью в различных областях ИТ. Цель работы – исследовать с помощью нейросетей реализацию подхода к использованию оценки состояния объекта инфраструктуры АПК на основе анализа статистики его работы.

Объектами являлись данные технических устройств из производственного цикла предприятия АПК. Исследование провели на примере объектов фасовочного оборудования как единого объекта и теплицы как объекта с набором характеристик. Использовали искусственные нейронные сети.

Задача состоит в выделении факторов, описывающих объект АПК или часть его свойств, которые соответствуют определенной задаче, для прогнозирования его состояния с целью принятия управленческих решений. Выделили пять факторов, которые описывают состояние объекта. Сформировали модель, элементы которой используются в качестве выходных данных для нейросети. Данная модель рассчитывает прогнозное состояние объекта. Провели пробные исследования на ограниченном наборе данных на многослойном персептроне. В рамках работы с малым набором данных нейросеть показала хорошие результаты при оценке определенного объекта. Средняя квадратическая ошибка обученной нейросети составила 0,1216, среднемодульное отклонение – 0,0911.

Исследования показали возможность применения оценивающих нейросетей в системах поддержки принятия управленческих решений. Результаты могут быть использованы как вариант применения современных нейросетевых технологий в АПК в работе контрольно-управленческих и диспетчерских задач. Дальнейшие исследования направлены на изучение паттернов работы отдельных устройств.

Ключевые слова. Нейронные сети, машинное обучение, многослойный персептрон, статистика, прогнозирование, модели, сельское хозяйство, оборудование

Для цитирования: Грачев А. В. Применение нейросетевых технологий для прогнозирования состояния работы объектов предприятий АПК // Техника и технология пищевых производств. 2023. Т. 53. № 4. С. 816–823. <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2023-4-2481>

Neural Network Technologies in Predicting the Operating Status of Agricultural Enterprises



Aleksandr V. Grachev

Siberian State Industrial University , Novokuznetsk, Russia

Received: 07.06.2023

Revised: 28.06.2023

Accepted: 04.07.2023

Aleksandr V. Grachev: grachev_av@list.ru

© A. V. Grachev, 2023



Abstract.

All agricultural facilities in Russia are currently going through digital transformation. However, the process needs a unified approach for the entire agricultural sector. Neural network methods have already proved extremely effective in various areas of IT. The authors used neural networks to analyze statistic data and assess the performance of agricultural infrastructure. This study involved technical data from the production cycle of agro-industrial enterprises, namely packaging and greenhouses. The data obtained were analyzed using artificial neural networks.

The procedure included identifying a set of factors that described an agro-industrial complex or some of its properties that corresponded to a specific task. These data were used in planning and making managerial decisions. The program identified five factors that described the state of an agricultural enterprise. These factors were used to build a model while its elements served as output data for the neural network. The model calculated the future state of the object. Trials were run on a limited data set on a multilayer perceptron. The neural network showed reliable results for a small data set. The root mean square error of was 0.1216; the mean modulus deviation was 0.0911.

In this research, modern neural network technologies demonstrated good prospects for the domestic agro-industrial complex as a method of control, management, and dispatching. However, specific operational patterns require further studies.

Keywords. Neural networks, machine learning, multilayer perceptron, statistics, forecasting, models, agriculture, equipment

For citation: Grachev AV. Neural Network Technologies in Predicting the Operating Status of Agricultural Enterprises. Food Processing: Techniques and Technology. 2023;53(4):816–823. (In Russ.). <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2023-4-2481>

Введение

Цифровое управление невозможно без больших объемов статистической информации. АПК как отрасль невозможна без обработки данных и принятия решений из возможных и/или доступных вариантов. Объекты АПК могут находиться в состоянии неопределенности, поэтому необходимо применять методы и способы обработки потоков данных. Цифровизация не только обрабатывает потоки данных, но и является источником данных.

Для АПК характерны высокая энергоемкость производства, торможение в вопросах перехода на новые технологии и зависимость от природных ресурсов. Производственный процесс обусловлен номенклатурой товаров, которые имеют разнообразные рецептуры или требуют определенных условий производства. Поэтому вопрос поиска унифицированных подходов для применения цифровых технологий в АПК актуален.

Популярность нейросетевых методов обусловлена их результативностью в различных областях ИТ [1–3]. В АПК распространение получила отрасль

под названием «машинное виденье». Комбайны, управляемые автоматом (роботом), используют такие методы для контроля кромки полосы полей.

Искусственный интеллект будет эффективен в том случае, если заменит собой рутинный труд человека. В отрасли АПК пока тенденции к этому незаметны. Неучтенные факторы в растениеводстве или животноводстве обесценивают тактику и стратегию производства и могут свести к нулю приложенные усилия. Если следование производственному циклу является делом специалиста, то операции сбора и анализа потоков данных могут быть автоматизированы [4–7]. Нейросети применяются для решения сложных задач машинного виденья: распознавания образов, анализа данных, кластеризации, классификации и др. [8, 9]. Нейросети оперируют цифрами, т. е. прежде чем полученные данные можно будет использовать, нужно точно знать что они будут значить.

Основными резервами повышения эффективности производства агропромышленной организации являются доступные ресурсы предприятия, организационно-технические характеристики, определенный

уровень, отражающий качество, и иные факторы, которые влияют на эффективности работы и являются внешним воздействием. В целях прогнозирования работоспособности, эффективности производства и реализации продукции агропромышленных предприятий необходимо оценить нормальные состояния технических объектов, т. е. факторы, которые могут отличаться от предприятия к предприятию.

Целью использования нейросетей является определение границ интервала изменений показателей работы конкретного набора объектов, которые не приводят к сбоям производственного процесса. Поэтому возникает необходимость в прогнозировании состояния участвующих в производственном цикле технических объектов: оценить их состояние в процессе будущих циклов производства. Важным фактором оценки прогнозирования работы объектов предприятия является их техническое состояние, внешние факторы и накопленный опыт работы в своей отрасли.

Для реализации указанных факторов и модели управления с прогнозированием состояния объектов нужно составить схему с перечислением характеристик, которые влияют на объекты.

Работа объектов предприятия представляет собой цикл однотипных повторяющихся операций. Любой производственный объект на предприятии АПК (например, оборудование) – это узел производственной цепи, участник цепочки последовательных действий, направленных на получение определенного результата. Данный узел имеет свои показатели работы и состояния. Эти показатели могут изменяться в процессе работы, а также находиться в рамках нормы или отклоняться от того интервала, который ранее было принято считать нормальным.

Оценка объекта АПК как узлов-датчиков происходит с учетом типа задачи и внешних факторов, влияющих на работу выбранного объекта.

В качестве характеристик прогнозирования состояния объекта АПК использовали:

- x_1 – загруженность объекта в долях в интервале допустимых значений для объекта (агента, датчика);
- x_2 – отношение выполненных/невыполненных задач на объекте для оценивания рассматриваемого объекта в промежутке к общему количеству;
- x_3 – соотношение длительности работ к нормальному времени работы для объекта;
- x_4 – учитывает влияние внешних факторов и описывает долю недоступности объекта для работы. Под «агрессивным фактором» следует понимать любое противодействие процессу и препятствие нормальной работе объекта и оборудования.
- x_5 – опыт работы объекта в прошлые рабочие циклы. Информация о прошлых циклах использования содержат в себе данные о работе объекта на предыдущих задачах.

Описание переменных, влияющих на состояние технического объекта, приведено в таблице 1.

Объекты и методы исследования

Прогнозирование состояния объекта АПК. Применение нейросетей в АПК призвано оценить объект и его желаемый результат, а также спрогнозировать объемы производства, зависящие от коррекции рациона, прогнозирования болезней и времени подкормки и обработки [10–12]. Это элементы, которые влияют на итоговый процесс работы объекта АПК с точки зрения аграрной науки [13–15].

Теплица – это инфраструктурный объект, который представляет собой сложную техническую систему, имеющую в своем составе различные технические узлы, которые выполняют те или иные контрольные функции. Данные с этих узлов могут служить источником статистики для прогнозирования состояния теплиц [16–18]. Еще одним участником прог-

Таблица 1. Коэффициенты, характеризующие работу объекта АПК (для фасовочного оборудования)

Table 1. Agro-industrial complex facility performance: coefficients for packaging equipment

Типы данных	Краткое описание	Интервал нормального значения для задачи на оценочный период	Максимальное значение для объекта
Загруженность объекта	Узел нагружен запланированными задачами. Постоянная загрузка на определенный период времени (смену) в долях от расчетной для объекта и задачи	0,4–0,9	0,5
Выполнение задачи	Доля успешно выполненных задач. Выполненный объем от запланированного	0,7–0,9	0,9
Длительность работ в долях	Выражение времени, затраченного на цикл работ, в долях с учетом превышенного времени в долях от нормального для данного типа работ	0,8–1,2	1,0
Внешние факторы	Выраженное влияние внешних факторов на объект, доля недоступности объекта во время работы	0,1–0,3	0,2
Выполненные работы в прошлые циклы (периоды)	Доля выполненных работ из статистики всех учтенных циклов	0,7–0,9	0,9

нозирования состояния объекта АПК является оборудование производственного процесса: комбайны, станки, ирригационные системы и т. д.

Для оценки состояния оборудования и технической составляющей объекта АПК как элемента производственного процесса необходимы элементы управления всем процессом производства. Внедрение автоматизации и объединение объектов АПК в сеть создает необходимость использования методов, оценивающих состояние объектов АПК в автоматизированном режиме.

Обученная нейросеть, способная дать прогноз оценки состояния конкретного объекта, может быть использована специалистом как один из методов, который привлекает внимание специалиста к определенному участку процесса. Выход из строя одного из объектов производственного процесса приведет к его полной остановке. Схема архитектуры нейросети представлена на рисунке 1.

Цель метода прогнозирования с использованием нейронной сети состоит в ведении численной характеристики, состоящей из совокупности ряда значений параметров, которая определила единую оценку конкретного фактора, влияющего на работу.

Переменные являются комплексными и состоят из ряда характеристик, которые учитываются или могут учитываться при работе оборудования.

Любой объект на предприятии может быть оценен «на глаз», т. е. на основе мнения технолога либо для его оценки можно применить заранее заданные критерии. Например, производительность кг/ч установки. То есть всегда есть комплексная переменная X , состоящая из ряда показателей [19]. Например, устройство, выполняющее свою функцию и имеющее выходные параметры для контроля своей работы, т. е. необходимые данные.

Для исследования были доступны данные по техническим характеристикам теплицы и по работе фасовочно-упаковочного оборудования.

В рамках исследования выделили два основных направления:

– «экспертная» оценка: оценка профильным специалистом на основе привычных для него показателей.

$$\text{Условная } X_{\text{эксперт}} = (x_1, x_2, \dots, x_n) \quad (1)$$

Экспертная оценка, отражающая мнение технолога, оперирует набором отклонений от благоприятных условий работы. Если речь идет о теплице, то следует учитывать условия, которым необходимо придерживаться при выращивании той или иной культуры. Идеальные условия могут быть достигнуты только в лабораториях. Даже в технологически сложных тепличных комплексах имеются допуски по отклонениям тех или иных показателей. Поэтому технолог, сняв данные в реальном времени (термометр), предпринимает шаги к нормализации условий (доведение температуры до допустимых промежутков) на основе субъективного опыта. Поэтому за условия следует принять наличие определенных границ допустимых значений, которые условно можно определить как «нормальные».

– техническая оценка: оценка на основе технических характеристик объекта. Эти критерии уже известны, т. к. почти любое оборудование имеет ряд технических характеристик, описанных производителем.

$$\text{Условная } X_{\text{техн}} = (x_1, x_2, \dots, x_n) \quad (2)$$

Переменная x отражает загрузку оборудования, при котором его работа не является фактором, отрицательно влияющим на итоговые показатели работы.

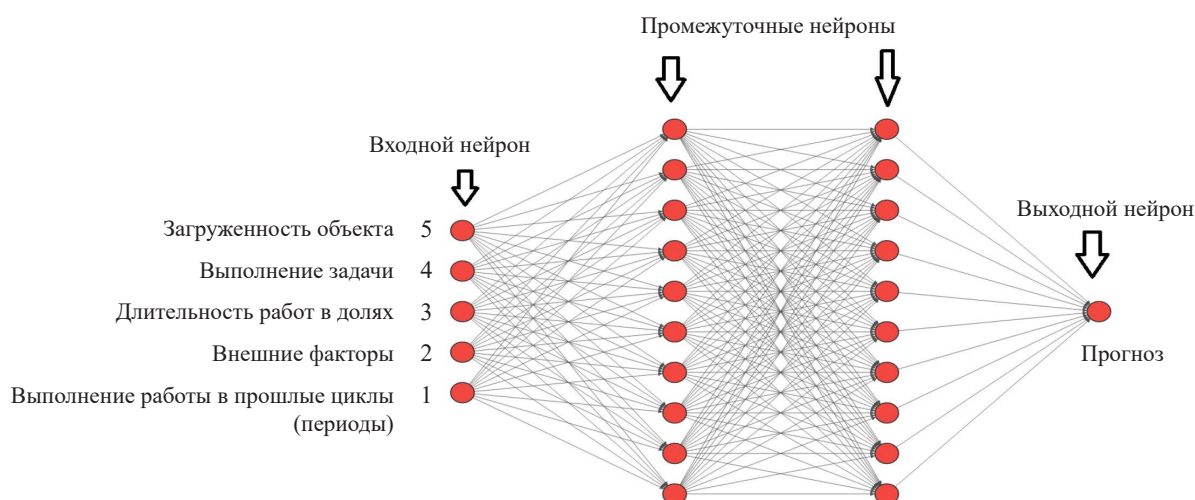


Рисунок 1. Схема архитектуры нейросети

Figure 1. Neural network architecture

Например, чтобы работа установки фасования не была убыточной для предприятия, она должна быть загружена не менее чем на половину мощности, т. е. на 0,5. Интервал нормальной работы находится в границах 0,4–0,9, т. е. оценка работы будет считаться нормальной в границах выделенного интервала и допустимой при работе вдоль границ минимальных или максимальных значений. Такой интервал может быть установлен как на основе опыта использования оборудования, так и на основе технических характеристик, описанных производителем.

Доступные данные и выбор объекта. Для исследования работы нейросети использовали объекты фасовочного оборудования как единицу производственного оборудования и теплицу как объект с набором характеристик в составе.

При работе с теплицей исследовали возможность применения нейросети в условиях, когда в наборе характеристик присутствуют комплексные данные. Данные по температуре легко измеряемы, а данные по давлению в приточной системе вентиляции для равномерного распределения нагнетаемого воздуха влияют на работу теплицы. Также использовали имеющиеся данные по контролю климата. Предполагалось, что авторегулирование температуры уже работает, поэтому требовалось оценить влияние его работы на сам объект.

Архитектура нейронной сети. Использовали многослойный персептрон со скрытыми слоями по десять нейронов. Исследуемый набор данных разделили в соотношении 80 % обучающей выборки и 20 % вариационной. Тип обучения – с обратным распространением ошибки, метод обучения – стохастический градиентный спуск. Число входов – 5, число нейронов в слое – 10, выход – 1. Архитектура определена экспериментально.

Оценка работы объекта, соответствующего определенным критериям. В качестве объекта выступил ряд устройств, который имеет набор технических характеристик, оценивающих состояние внутри объекта и влияющих на процесс работы:

$$X = (x_1, x_2, \dots, x_n) \quad (3)$$

где X – объект АПК; $x_1, x_2, \dots, x_n$ – данные о работе.

Характеристики объекта являются набором показателей каждого датчика:

$$X = (x_{11}, x_{12}, \dots, x_{1n}), (x_{21}, x_{22}, \dots, x_{2n}), (x_{31}, x_{32}, \dots, x_{3n}), \\ (x_{mn}, x_{mn-1}, \dots, x_{1n}), (x_{mn}, x_{mn-1}, \dots, x_{mn-1}) \quad (4)$$

Описанный выше процесс оценки объекта АПК можно представить в виде последовательности, представленной в схеме на рисунке 2.

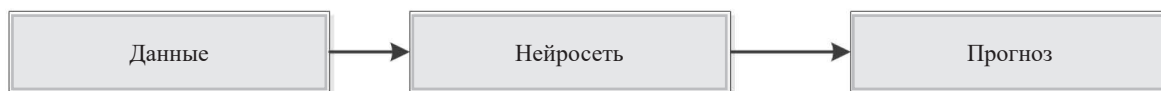


Рисунок 2. Схема обработки данных

Figure 2. Data processing flowchart

Таблица 2. Примеры использования нейросети для прогноза характеристик

Table 2. Using a neural network to predict characteristics: examples

Тип объекта	Загруженность объекта	Производственная эффективность (доля выполненных работ)	Временная эффективность (затрачиваемое время)	Влияние на прогнозируемые факторы (внешние)	Доля выполненных работ
Фасовочное оборудование					
Станция фасовки овощей	0,48	0,76	0,61	0,20	0,55
Полировка для овощей	0,63	0,11	1,17	1,00	2,90
Ленточный инспекционный стол	0,38	0	2,00	0,50	2,88
Теплицы					
Давление воздуха в приточной системе вентиляции	0,45	0,65	0,54	0,19	0,47
Влажность	–1,13	1,83	2,00	0	2,71
Климат-контроль	0,75	0,11	1,50	0	2,36
Освещенность	–0,60	1,71	0,67	0,50	2,28

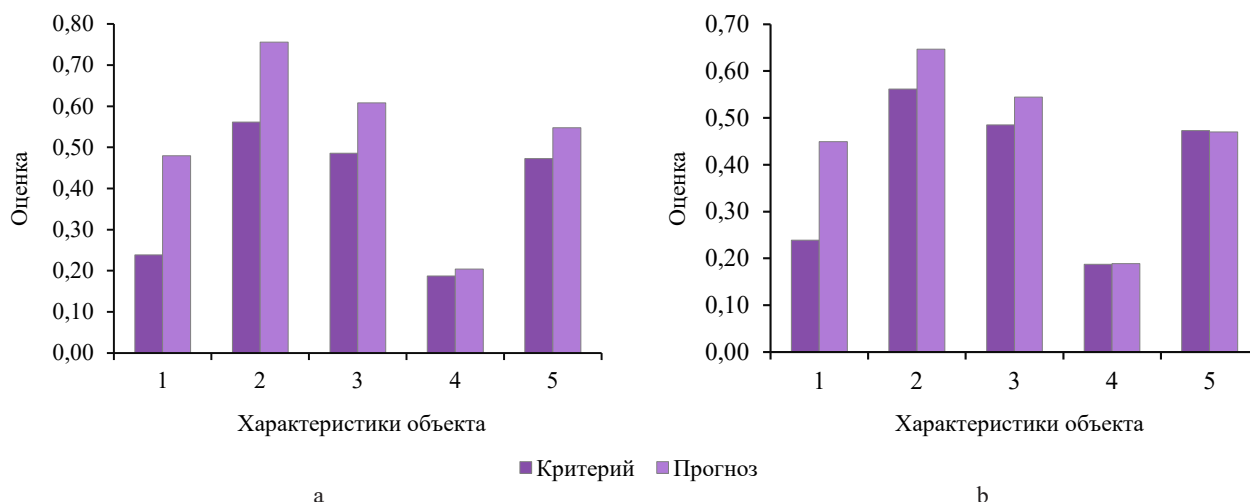


Рисунок 3. Пример тестового прогноза для а – станции фасовки, б – контроля давления воздуха

Figure 3. Trial forecast: a – filling station, b – air pressure control

Таблица 3. Результат прогноза и заданные интервалы для объекта «станция фасовки»

Table 3. Forecast and intervals for packing station

Типы данных	Объект: станция фасовки	Интервал нормального значения для задачи на оценочный период	Максимальное значение для объекта
Загруженность объекта	0,48	0,4–0,9	0,5
Выполнение задачи	0,76	0,7–0,9	0,9
Длительность работ в долях	0,61	0,8–1,2	1,0
Внешние факторы	0,20	0,1–0,3	0,2
Выполненные работы в прошлые циклы (периоды)	0,55	0,7–0,9	0,9

Результаты и их обсуждение

Пример работы нейросети на тестовой выборке обычных статистических данных приведен в таблице 2. В ней указаны полученные оценочные характеристики для объектов фасовочного оборудования и ряда характеристик теплицы. При наличии нужного количества данных перцептрон может быть обучен под другие объекты агропромышленного оборудования.

На рисунке 3 представлены гистограммы, на которых приведены примеры расчетов для каждого критерия, где первый столбец – текущие состояния, а второй – прогнозное.

Результат, представленный на рисунке 3, состоит из двух частей: первый столбец – это контрольный уровень (табл. 1), который ранее было принято считать нормальным показателем, второй столбец – это работа нейросети для получения прогноза о состоянии.

Прогноз $X_{\text{станция_фасовки}} = (0,48), (0,76), (0,61), (0,20), (0,55)$

Результат прогноза заявленным ранее нормальным интервалам представлен в таблице 3.

При обучении нейросети удалось достичь следующих показателей, что является удовлетворительным показателем: средняя квадратическая ошибка – 0,1216, дисперсия – 0,3971, среднемодульное отклонение – 0,0911, средне-относительная ошибка – 12,921.

Сравнение результатов для примера с элементом теплицы в виде устройства по обеспечению давления воздуха следует проводить аналогично. Из полученных результатов для примера со станцией фасовки видно, что по выделенным показателям ожидаются отклонения.

Любой процесс в производстве – это цепочка последовательных операций, направленных на достижение результата, или узлов, отвечающих за целостность каждого из своих участков. Следовательно, чтобы оценочные показатели могли быть применены в работе, выполняется предварительная оценка участка как единого целого, т. е. теплицы как единого объекта или участка фасовочного оборудования как совокупности единиц технических устройств.

Общая оценка выполняется по формуле (5):

$$M_{\text{seg}} = \frac{1}{5} \sum_{N=1}^N (M_{\text{obj}}) \quad (5)$$

где M_{seg} – оценки объекта в составе сегмента; M_{obj} – оценка состояние объекта как технического устройства с набором характеристик; N – количество узлов (объектов) в сегменте или количество оценочных характеристик.

Применение комплекса оценочных показателей на основе прогнозов нейросетей для управления сегментами производственных объектов является предметом дальнейших исследований.

Выводы

Исследовали возможность применения нескольких обученных нейросетей для работы с данными объектов АПК и использования аппарата искусственной нейросети на ограниченном наборе данных, который содержал статистику в виде легко измеряемых данных или части косвенных данных, влияющих на объект только в составе с некоторыми характеристиками. Исследовалась возможность использования нейросети как составной части системы оценки объектов АПК для оценки системы управления. Проверили возможность использования способностей нейросети при недостаточном объеме статистики [20].

Система с использованием нейросети может быть использована в составе специализированного программного обеспечения для мониторинга технических объектов АПК для обеспечения возможности прогнозирования состояния отдельного объекта. Это

может дать возможность специалисту-технологу заранее предпринять меры по устранению возможных проблем.

Критерии авторства

А. В. Грачев – концептуализация, составление методологии, создание программного обеспечения, проверка и формальный анализ, проведение исследования, предоставление ресурсов, курирование метаданными, написание замечаний и редактирование, создание визуализации, администрирование, руководство и финансирование.

Конфликт интересов

Автор заявляет об отсутствии конфликта интересов.

Contribution

A.V. Grachev developed the concept, methodology, and software, verified and analyzed the data, performed the research, reviewed scientific publications, worked with the metadata, wrote and proofread the article, visualized the data, supervised and funded the research.

Conflict of interest

The author declares that there is no conflict of interest regarding the publication of this article.

References/Список литературы

1. Shutkov AA, Anishchenko AN. The future of artificial intelligence, neural networks and digital technologies in agriculture. *Economics and Society: Contemporary Models of Development*. 2019;9(4):508–522. (In Russ.). [Шутков А. А., Анищенко А. Н. Будущее искусственного интеллекта, нейросетей и цифровых технологий в АПК // Экономика и социум: современные модели развития. 2019. Т. 9. № 4. С. 508–522.]. <https://www.elibrary.ru/RVWTTQ>
2. Pogonyshev VA, Pogonysheva DA, Torikov VE. Neural networks in digital agriculture. *Vestnik of the Bryansk State Agricultural Academy*. 2021;87(5):68–71. (In Russ.). <https://doi.org/10.52691/2500-2651-2021-87-5-68-71>
3. Rogov MA, Dubovickiy AA. The prospect of using neural networks in the agro-industrial complex market. *Science and Education*. 2022;5(2). (In Russ.). [Рогов М. А., Дубовицкий А. А. Перспектива использования нейронных сетей на рынке АПК // Наука и Образование. 2022. Т. 5. № 2.]. <https://www.elibrary.ru/BTXLPP>
4. Galanina OV, Zolotaryova YuP. Feedforward neural network in the study of agricultural economics. *Izvestia MAAO*. 2021;(56):61–64. (In Russ.). [Галанина О. В., Золотарева Ю. П. Нейронная сеть прямого распространения в исследовании экономики сельского хозяйства // Известия Международной академии аграрного образования. 2021. № 56. С. 61–64.]. <https://www.elibrary.ru/HPXPMD>
5. Yurchenko IF. Digital systems integration into agriculture within the reclaimed lands. *International Technical and Economic Journal*. 2020;(4):73–80. (In Russ.). <https://doi.org/10.34286/1995-4646-2020-73-4-73-80>
6. Polenov DYU. Artificial intelligence in regulating the productivity of agricultural objects. *Vestnik of Voronezh State Agrarian University*. 2021;14(1):46–51. (In Russ.). https://doi.org/10.53914/issn2071-2243_2021_1_46
7. Ivashkin YuA, Nikitina MA. Agent and neural network technologies in situational modeling of technological systems. *Mathematical Methods in Technique and Technologies – MMTT*. 2018;1:123–128. (In Russ.). [Ивашкин Ю. А., Никитина М. А. Агентные и нейросетевые технологии в ситуационном моделировании технологических систем // Математические методы в технике и технологиях – ММТТ. 2021. Т. 1. С. 123–128.]. <https://www.elibrary.ru/XWERDN>
8. Vahrameev RA, Tolmachev MN, Afanasiev VN. Using a neural network to forecast prospects for the development of the agro-industrial complex of the Russian Federation. *Vestnik of Samara State University of Economics*. 2020;187(5):52–58. (In Russ.). <https://doi.org/10.46554/1993-0453-2020-5-187-52-58>

9. Digitalization of agricultural production in Russia in 2018–2025 [Internet]. [cited 2023 Aug 05]. Available from: https://agrardialog.ru/files/prints/apd_studie_2018_russisch_fertig_formatiert.pdf
10. Mak-Kallok US, Pitts V. Logical calculus of ideas relating to nervous activity. In: Shennon KEh, Makkarti Dzh, editors. Automatic machines. Moscow: Izdatel'stvo inostrannoy literatury; 1956. pp. 363–384. (In Russ.). [Мак-Каллок У. С., Питтс В. Логическое исчисление идей, относящихся к нервной активности // Автоматы / под ред. К. Э. Шеннона и Дж. Маккарти. М.: Издательство иностранной литературы, 1956. С. 363–384.].
11. Lekun Ya. How a machine learns. Revolution in neural networks and deep learning. Moscow: Al'pina PRO; 2021. 335 p. (In Russ.). [Лекун Я. Как учится машина. Революция в области нейронных сетей и глубокого обучения. М.: Альпина PRO, 2021. 335 с.].
12. Kartechina NV, Dorokhova AM, Abaluev RN, Shatskiy VA, Gushchina AA, Chirkin SO. Types of neural networks and their application. Science and Education. 2021;4(3). (In Russ.). [Виды нейронных сетей и их применение / Н. В. Картечина [и др.] // Наука и Образование. 2021. Т. 4. № 3.]. <https://www.elibrary.ru/HMFMXV>
13. Timofeev MG, Babaytsev AV, Nikonorova LI. Artificial intelligence in agriculture. Science and Education. 2020;3(4). (In Russ.). [Тимофеев М. Г., Бабайцев А. В., Никонорова Л. И. Искусственный интеллект в сельском хозяйстве // Наука и Образование. 2020. Т. 3. № 4.]. <https://www.elibrary.ru/HGGVDR>
14. Yurchenko IF. The development prospects for automatic control systems of agricultural production on reclaimed lands. Scientific Journal of Russian Scientific Research Institute of Land Improvement Problems. 2019;36(4):164–177. (In Russ.). <https://doi.org/10.31774/2222-1816-2019-4-164-177>
15. Ilishev AP, Tolmachev OM. Artificial intelligence and neural network technologies in a digital platform for the breakthrough development of the Russian agricultural sector. Economics and Society: Contemporary Models of Development. 2019;9(4):492–507. (In Russ.). [Илышев А. П., Толмачев О. М. Искусственный интеллект и нейросетевые технологии в цифровой платформе прорывного развития российского АПК // Экономика и социум: современные модели развития. 2019. Т. 9. № 4. С. 492–507.]. <https://www.elibrary.ru/CUUFOV>
16. Torikov VE, Pogonyshv VA, Pogonyshva DA, Dornyh GE. State of digital transformation of agriculture. Bulletin of the Kursk State Agricultural Academy. 2020;(9):6–13. (In Russ.). [Состояние цифровой трансформации сельского хозяйства / В. Е. Торилов [и др.] // Вестник Курской государственной сельскохозяйственной академии. 2020. № 9. С. 6–13.]. <https://www.elibrary.ru/CONNGK>
17. Windsor FM, Armenteras D, Assis APA, Astegiano Ju, Santana PC, Cagnolo L, *et al.* Network science: Applications for sustainable agroecosystems and food. Perspectives in Ecology and Conservation. 2022;20(2):79–90. <https://doi.org/10.1016/j.pecon.2022.03.001>
18. Petrescu I-E, Ignat R, Constantin M, Istudor M. Risk management of agri-food value chains – Exploring research trends from the web of science. In: Dima AM, Kelemen M, editors. Digitalization and big data for resilience and economic intelligence. Cham: Springer; 2022. pp. 55–66. https://doi.org/10.1007/978-3-030-93286-2_4
19. Grachev AV, Kiseleva TV, Koynov RS, Dobrynin AS. Method of estimation of intermediate nodes of data transmission for routing hierarchical networks with different topologies. Proceedings of Voronezh State University. Series: Systems Analysis and Information Technologies. 2015;(1):32–38. (In Russ.). [О методе оценивания промежуточных узлов передачи данных для маршрутизации в иерархических сетях разной топологии / А. В. Грачев [и др.] // Вестник Воронежского государственного университета. Серия: Системный анализ и информационные технологии. 2015. № 1. С. 32–38.]. <https://www.elibrary.ru/TSZJPX>
20. Tokarev KE, Rudenko AYU, Kuzmin VA, Chernyavsky AN. Theory and digital technologies of intellectual support for decision-making to increase the bio-productivity of agroecosystems based on neural network models. Proceedings of Lower Volga Agro-University Complex: Science and Higher Education. 2021;64(4):421–440. (In Russ.). <https://doi.org/10.32786/2071-9485-2021-04-42>

<https://doi.org/10.21603/2074-9414-2023-4-2482>
<https://elibrary.ru/ROCSEV>

Оригинальная статья
<https://fptt.ru>

Электрохимические сенсоры на основе сеток из однослойных углеродных нанотрубок для вольтамперометрического определения аскорбиновой кислоты



Н. В. Иванова^{ORCID}, Е. А. Мартынова,
А. И. Вершинина^{ORCID}, М. В. Ломакин^{ORCID}, Г. О. Еремеева^{ORCID},
О. Р. Гордая^{ORCID}, С. Д. Шандаков*^{ORCID}

Кемеровский государственный университет^{ORCID}, Кемерово, Россия

Поступила в редакцию: 11.10.2023
Принята после рецензирования: 15.11.2023
Принята к публикации: 05.12.2023

*С. Д. Шандаков: sergey.shandakov@gmail.com,
<https://orcid.org/0000-0001-7902-1178>
Н. В. Иванова: <https://orcid.org/0000-0002-6206-3504>
А. И. Вершинина: <https://orcid.org/0000-0001-6561-0924>
М. В. Ломакин: <https://orcid.org/0000-0001-6544-3687>
Г. О. Еремеева: <https://orcid.org/0000-0003-0188-0065>
О. Р. Гордая: <https://orcid.org/0000-0002-9293-9271>

© Н. В. Иванова, Е. А. Мартынова, А. И. Вершинина,
М. В. Ломакин, Г. О. Еремеева, О. Р. Гордая, С. Д. Шандаков, 2023



Аннотация.

Создание высокочувствительных и селективных сенсорных систем для определения биологически активных веществ является одним из важнейших направлений развития современной аналитической химии. В работе представлены результаты исследования электрохимических свойств новых волоконных материалов на основе сеток из однослойных углеродных нанотрубок, предназначенных для изготовления сенсоров для определения содержания аскорбиновой кислоты методом вольтамперометрии.

Разработана технология синтеза сеток из разупорядоченных однослойных углеродных нанотрубок методом химического осаждения из газовой фазы и изготовления волокон методом мокрого вытягивания сеток однослойных углеродных нанотрубок из растворителя. Оптимизирована методика подготовки сеток и волокон, сочетающая отжиг на воздухе и обработку сильными неорганическими кислотами. Экспериментально выбраны условия регистрации вольтамперных кривых (фоновый электролит, скорость развертки, условия предварительного кондиционирования) для получения максимального отклика сенсора на содержание аскорбиновой кислоты. Ток и площадь пика окисления аскорбиновой кислоты не зависят от времени и потенциала кондиционирования сенсора. Линейные зависимости этих параметров от концентрации аскорбиновой кислоты в фосфатном буферном электролите наблюдаются в диапазоне 50–500 мкмоль/л (8,8–90 мг/л) при скорости сканирования 0,1 мВ/с. Чувствительность миниатюрного волоконного сенсора из сеток однослойных углеродных нанотрубок длиной 0,5 см и средней шириной 400 мкм в два раза выше чувствительности дискового стеклогуглеродного электрода диаметром 5 мм.

Достигнутые показатели позволяют использовать сенсоры для определения аскорбиновой кислоты в пищевых продуктах, фармацевтических препаратах и биологических жидкостях.

Ключевые слова. Углеродные нанотрубки, сенсоры, вольтамперометрия, аскорбиновая кислота

Финансирование. Работа поддержана Министерством науки и высшего образования Российской Федерации (Минобрнауки России)^{ORCID} (проект № FZSR-2020-0007 в рамках государственного задания № 075-03-2020-097/1).

Для цитирования: Электрохимические сенсоры на основе сеток из однослойных углеродных нанотрубок для вольтамперометрического определения аскорбиновой кислоты / Н. В. Иванова [и др.] // Техника и технология пищевых производств. 2023. Т. 53. № 4. С. 824–831. <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2023-4-2482>

Electrochemical Sensors Based on Single-Wall Carbon Nanotubes in Voltammetric Ascorbic Acid Tests



Natalia V. Ivanova^{ORCID}, Elizaveta A. Martynova,
Anna I. Vershinina^{ORCID}, Maksim V. Lomakin^{ORCID},
Galina O. Ereemeeva^{ORCID}, Olesya R. Gordaya^{ORCID}, Sergey D. Shandakov*^{ORCID}

Kemerovo State University^{ORCID}, Kemerovo, Russia

Received: 11.10.2023
Revised: 15.11.2023
Accepted: 05.12.2023

*Sergey D. Shandakov: sergey.shandakov@gmail.com,
<https://orcid.org/0000-0001-7902-1178>
Natalia V. Ivanova: <https://orcid.org/0000-0002-6206-3504>
Anna I. Vershinina: <https://orcid.org/0000-0001-6561-0924>
Maksim V. Lomakin: <https://orcid.org/0000-0001-6544-3687>
Galina O. Ereemeeva: <https://orcid.org/0000-0003-0188-0065>
Olesya R. Gordaya: <https://orcid.org/0000-0002-9293-9271>

© N.V. Ivanova, E.A. Martynova, A.I. Vershinina,
M.V. Lomakin, G.O. Ereemeeva, O.R. Gordaya, S.D. Shandakov, 2023



Abstract.

Modern highly sensitive and selective sensors are able to determine biologically active substances, which makes this direction one of the most popular areas of analytical chemistry. The study featured the electrochemical properties of new fiber materials based on single-wall carbon nanotubes with prospects of using them in the voltammetry of ascorbic acid.

The authors developed a new technology to synthesize films from disordered single-wall carbon nanotubes by chemical vapor deposition. Fibers were produced from a solvent by wet-pulling of single-wall carbon nanotubes networks. Thin films of randomly oriented single-wall carbon nanotube bundles were deposited downstream of a floating aerosol CVD reactor, which included a high temperature furnace with a quartz tube. The synthesis of the single-wall carbon nanotube samples was performed at 825°C. Ethanol served as carbon source while ferrocene was used as catalyst precursor. The single-wall carbon nanotubes were collected on a nitrocellulose filter in the form of films with transmittances of 10% in the middle of the visible wavelength (550 nm). The method was optimized to involve air annealing at 300–320°C and a treatment with strong inorganic acids, i.e., HCl, HNO₃ + H₂SO₄. The voltammetric curves recording included background electrolyte, scan rate, and preconditioning. These parameters were selected experimentally to obtain the maximal sensor response to ascorbic acid content. The anodic peak of ascorbic acid in the phosphate buffer electrolyte (pH 6.86) was observed at a potential of +0.2 V. The current and peak area of ascorbic acid oxidation depended neither on the time nor on the conditioning potential of the sensor. The linear dependences of these parameters on the concentration of ascorbic acid stayed within 50–500 µmol/L (8.8–90 mg/L) at a scan rate of 0.1 mV/s. The single-wall carbon nanotube microsensor had a length of 0.5 cm and an average width of 400 µm. Its sensitivity was two times as high as that of a disk glassy carbon electrode with a diameter of 5 mm. The experimental sensors proved effective in determining ascorbic acid in food products, pharmaceuticals, and biological fluids.

Keywords. Carbon nanotubes, sensors, voltammetry, ascorbic acid

Funding. The work was supported by the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation (Minobrnauki)^{ORCID}: project no. FZSR-2020-0007, state assignment no. 075-03-2020-097/1.

For citation: Ivanova NV, Martynova EA, Vershinina AI, Lomakin MV, Ereemeeva GO, Gordaya OR, *et al.* Electrochemical Sensors Based on Single-Wall Carbon Nanotubes in Voltammetric Ascorbic Acid Tests. Food Processing: Techniques and Technology. 2023;53(4):824–831. (In Russ.). <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2023-4-2482>

Введение

Открытие углеродных нанотрубок привело к возникновению нового направления в электроанализе, связанного с исследованием электрохимических характеристик углеродных нанотрубок и возможности их применения для определения различных веществ.

По сравнению с массивными углеродными материалами, такими как стеклоуглерод и графит, преимущества углеродных нанотрубок связаны с высокой адсорбционной активностью, развитой поверхностью и высокой скоростью переноса заряда при осуществлении электродных процессов. Указанные

особенности делают углеродные нанотрубки материалом выбора для использования в качестве активной поверхности индикаторного электрода-сенсора в вольтамперометрическом анализе органических веществ.

Разработка электрохимических сенсорных систем является активно развивающейся областью современной аналитической химии. Об этом свидетельствует высокая публикационная активность на протяжении последних десятилетий [1, 2]. Большинство представленных в литературе способов использования углеродных нанотрубок связано с их нанесением на поверхность инертного электрода и дальнейшей модификацией [1–6]. Это усложняет методику изготовления и приводит к снижению воспроизводимости результатов и срока службы получаемого сенсора. Электроды, полученные путем нанесения или выращивания углеродных нанотрубок на проводящей поверхности или путем печати, демонстрируют помехи от материала подложки. Также для них характерно неравномерное покрытие углеродных нанотрубок, снижение отклика во времени и влияние любого модификатора на физико-химические характеристики углеродных нанотрубок. Поэтому актуальной задачей является создание электродных материалов на основе несвязанных с подложкой сеток или волокон из углеродных нанотрубок. Анализ литературных данных показал наличие публикаций, авторы которых рассматривают использование единичных волокон/пучков из углеродных нанотрубок в исходном состоянии и волокон, полученных методом прядения [7–10].

В данной работе рассматривается возможность применения метода мокрого вытягивания для формирования прочных волокон из сеток однослойных углеродных нанотрубок, полученных методом аэрозольного осаждения из газовой фазы [11, 12]. Электроды-сенсоры из волокон указанного типа предлагается использовать для определения методом вольтамперометрии содержания аскорбиновой кислоты в различных объектах: продуктах питания и сырье, лекарственных средствах и биологических жидкостях.

Аскорбиновая кислота известна своими антиоксидантными свойствами. Она является жизненно необходимым для функционирования живых организмов веществом, т. к. играет важную роль в регуляции окислительно-восстановительных процессов и участвует в синтезе коллагена и проколлагена, обмене фолиевой кислоты и железа, а также в синтезе стероидных гормонов и катехоламинов. В пищевые продукты это вещество добавляют для увеличения срока годности и повышения витаминной ценности, в частности при производстве специальных и диетических продуктов и продуктов детского питания.

Среди существующих методов определения аскорбиновой кислоты вольтамперометрический анализ отличается высокой чувствительностью, эконо-

мичностью и экспрессностью, а варьирование типов электродных материалов позволяет повысить селективность определения. Например, предложены методики вольтамперометрического определения аскорбиновой кислоты с использованием сложных сенсорных систем на основе различных углеродных нанокомпозитов и наногибридов, слоистых наноструктур и материалов, модифицированных металлами и их оксидами [5, 6, 13–24].

Целью исследования являлась разработка новых миниатюрных сенсоров на основе однослойных углеродных нанотрубок, отличающихся увеличенным сроком эксплуатации и не содержащих модификаторов и допантов.

Объекты и методы исследования

Сетки однослойных углеродных нанотрубок, используемые для изготовления волокна, которое послужит электродным материалом, получали с помощью метода химического осаждения из газовой фазы. Для этого в качестве источника углерода использовался этанол (95,6 % purity), в качестве прекурсора катализатора – раствор ферроцена в этаноле ($C_{10}H_{10}Fe$, 98 % purity Sigma Aldrich). Раствор ферроцена в этаноле подавались в кварцевый трубчатый реактор при температуре 825 °C [11–13]. Однослойные углеродные нанотрубки собирались на нитроцеллюлозный фильтр с диаметром пор 0,45 мкм (Millipore Corp). Светопропускание сеток составило 10 % при длине волны 550 нм.

Из фильтра с сеткой однослойных углеродных нанотрубок вырезались полоски 0,5×2 см, которые помещались на кварцевое стекло марки КС-4В. Стекло с нанесенными сетками однослойных углеродных нанотрубок нагревали в трубчатой печи Nabertherm до 300–320 °C на воздухе при скорости нагрева 8 °C/мин. Сетки на стекле охлаждали до комнатной температуры, наносили 0,1 мл HCl (35,1 %) и оставляли на 1 ч. Образцы промывали дистиллированной водой и оставляли до полного высыхания при комнатной температуре. Метод мокрого вытягивания позволяет получать углеродные волокна путем самосборки сетки из однослойных углеродных нанотрубок за счет слабого ван-дер-ваальсова взаимодействия и сил поверхностного натяжения, возникающих при смачивании жидкостью [12, 13]. Из полиэтилентерефталата подготавливалась специальная рамка с отверстием и медным контактом. Волокно помещалось в эту рамку и его концы закреплялись с помощью термозапаивания при температуре 110–120 °C (рис. 1). Толщина волокон варьировалась в пределах 400–550 мкм. Длина рабочей поверхности волокна 0,5–2 см.

Электрохимические исследования проводили с использованием потенциостата/гальваностата VersaSTAT 3 в трехэлектродном режиме с индикаторным электродом (сенсором из сетки однослойных углеродных нанотрубок), стеклоуглеродным вспомога-

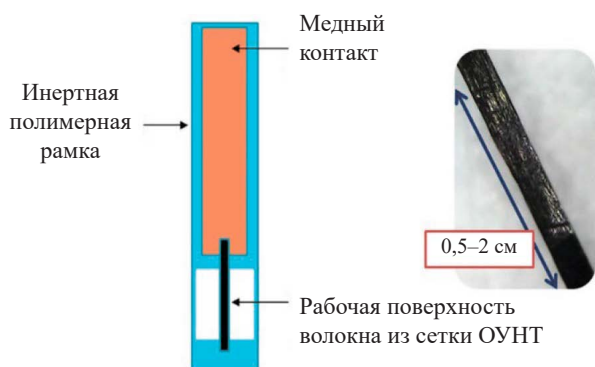


Рисунок 1. Конструкция волоконного сенсора из сетки однослойных углеродных нанотрубок (ОУНТ) и фотография рабочей поверхности волокна

Figure 1. Fiber sensor made from a network of single-wall carbon nanotubes: working fiber surface

ным электродом и хлоридсеребряным электродом сравнения ($\text{Ag}/\text{AgCl}/0,1 \text{ M KCl}$). Стандартный раствор аскорбиновой кислоты готовился по точной навеске, стандартизация раствора проводилась методом иодометрического титрования. В качестве фоновго электролита использовался фосфатный буферный раствор с $\text{pH } 6,86$. Оптимизировали условия проведения электрохимического эксперимента, включающие этапы последовательного циклирования потенциала в диапазоне от $-0,5$ до $+1,0 \text{ V}$, катодного выдерживания при $-0,5 \text{ V}$ с перемешиванием раствора и регистрации циклических вольтамперных кривых.

Результаты и их обсуждение

Электрохимический отклик электродов для вольтамперометрического анализа зависит от многих факторов. Поэтому на этапе создания сенсоров важно оп-

тимизировать не только условия получения однослойных углеродных нанотрубок и их постобработки, но и условия проведения регистрации сигнала (рис. 2).

В массиве однослойных углеродных нанотрубок после синтеза содержатся остатки катализатора, аморфный углерод и ряд органических соединений. Например, полициклические ароматические углеводороды. Волокна без предварительной очистки демонстрируют высокие фоновые токи. Также наблюдаются анодно-катодные максимумы в положительной области потенциалов от 0 до $+900 \text{ mV}$, характерные для соединений железа и кислородсодержащих функциональных групп. В связи с этим разработали методику очистки сеток и волокон, состоящую из следующих этапов: отжиг на воздухе при температуре 300°C ; обработка концентрированной соляной кислотой; обработка разбавленной нитрующей смесью (1:10) при нагревании.

Фоновые циклические вольтамперные кривые, полученные для подготовленных волоконных электродов в кислом электролите, показывают, что они характеризуются широкой областью рабочих потенциалов: от $-0,7$ до $1,0 \text{ V}$. В нейтральных и щелочных средах эта область увеличивается и находится в пределах от $-1,2$ до $+0,9 \text{ V}$.

Установлено, что исходные волокна из-за своей гидрофобности непригодны для использования без предварительной процедуры кондиционирования. Данная процедура заключается в выдерживании в этиловом либо изопропиловом спирте, бидистиллированной воде, а затем в многократном медленном циклировании ($v = 10\text{--}20 \text{ mV/s}$) в кислом электролите в условиях постепенного увеличения потенциального окна.

На качество получаемых электродных материалов влияет растворитель, из которого вытягиваются волокна. Механически прочные волокна получаются

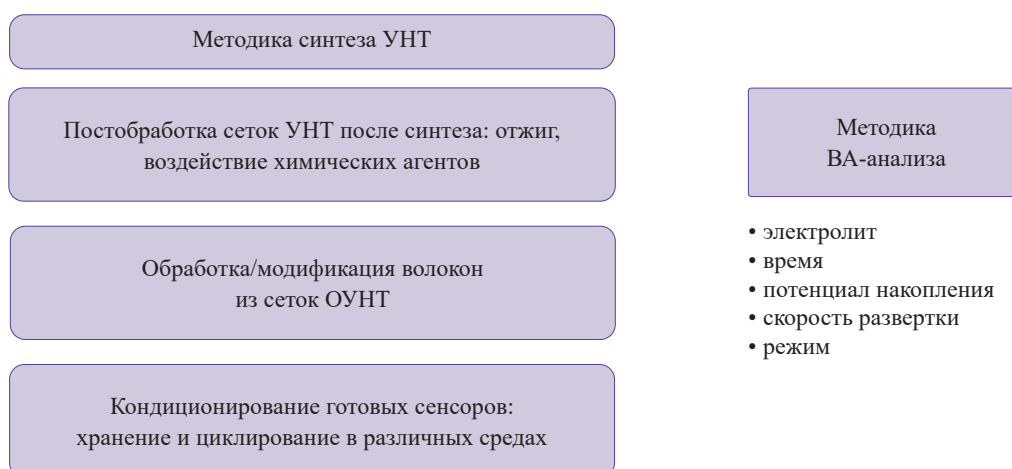


Рисунок 2. Факторы, влияющие на отклик волоконных сенсоров из однослойных углеродных нанотрубок (ОУНТ)

Figure 2. Factors affecting the response of single-wall carbon nanotube fiber sensors

при вытягивании из ацетона, а не из этанола, т. к. ацетон способствует лучшей очистке волокна от остатков органических примесей, не удаленных на предшествующих этапах. После изготовления электроды-сенсоры выдерживались в 0,1 М HCl в течение нескольких часов. Затем производилось электрохимическое кондиционирование электродов сначала при постоянном перемешивании: многократное циклирование в диапазоне потенциалов от 0 до 1,0 В со сменой фонового электролита (0,1 М HCl), а затем с катодным восстановлением при $-0,8$ В. После всех вышеперечисленных процедур делался вывод о пригодности электрода к работе. При наличии дополнительных сигналов на вольтамперометрических кривых электроды подвергались дополнительной очистке путем нагревания и обработки изопропиловым спиртом.

Анодный сигнал аскорбиновой кислоты, зарегистрированный с использованием сенсора из однослойных углеродных нанотрубок, имеет характерный вид пика (рис. 3), парный сигнал при катодном сканировании отсутствует. Следовательно, процесс окисления аскорбиновой кислоты происходит необратимо. Параметры пика окисления практически не изменяются после проведения катодного восстановления.

Согласно литературным данным аскорбиновая кислота окисляется в нейтральных средах с образованием дегидроаскорбиновой кислоты (рис. 4) [16–18].

Вследствие того что ионы водорода принимают участие в электродном процессе, положение пика окисления аскорбиновой кислоты зависит от pH среды. При подкислении происходит смещение пика в анодную область. В 0,1 М растворе хлороводородной кислоты потенциал пика составляет +0,75 В, в фосфатной буферной среде с pH 6,86 пик наблюдается при потенциале +0,16 В для одинаковой концентрации аскорбиновой кислоты 70 мкмоль/л.

Исследование влияния вольтамперометрических параметров показало, что потенциал и время предварительного катодного выдерживания не влияют на характеристики ($I_{\text{пика}}$, $S_{\text{пика}}$, $E_{\text{пика}}$) сигналов аскорбиновой кислоты. Следовательно, концентрирования аскорбиновой кислоты на поверхности электрода не происходит (табл. 1), и для анализа следует использовать вариант прямой вольтамперометрии. Ток пика окисления аскорбиновой кислоты пропорционален корню квадратному из скорости сканирования потенциала, что соответствует теоретическим закономерностям для указанного варианта вольтамперометрии в рамках подхода Рэндлса-Шевчика [25]. В качестве оптимальных использовались следующие условия: диапазон сканирования потенциалов от $-0,5$ В до +1,0 В, время выдерживания электрода при начальном потенциале 40 с, скорость сканирования 0,1 В/с.

Зависимость максимального тока и площади пика от концентрации аскорбиновой кислоты в растворе представлена на рисунке 5. Полученные калибровочные

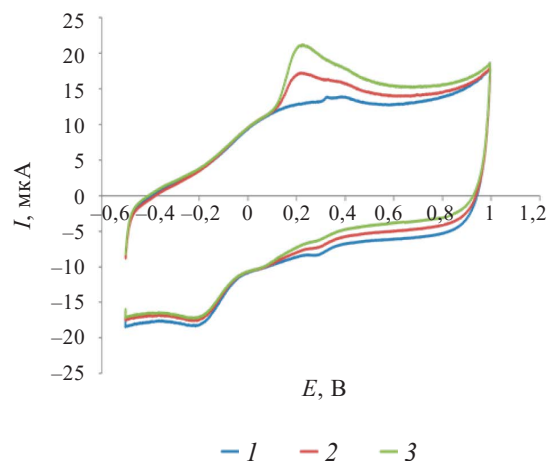


Рисунок 3. Циклические вольтамперные кривые, зарегистрированные с использованием волоконных сенсоров из однослойных углеродных нанотрубок в фосфатном буферном электролите (I) с добавками стандартных растворов аскорбиновой кислоты, мкМ (мг/л): 2 – 200 (35); 3 – 400 (75)

Figure 3. Cyclic voltammetric curves recorded using fiber sensors made of single-wall carbon nanotubes in a phosphate buffer electrolyte (I) with standard solutions of ascorbic acid, μM (mg/L): 2 – 200 (35); 3 – 400 (75)

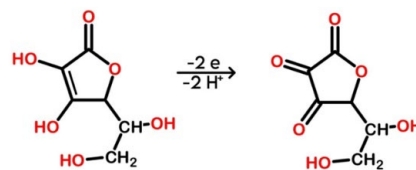


Рисунок 4. Схема процесса анодного окисления аскорбиновой кислоты

Figure 4. Anodic oxidation of ascorbic acid

Таблица 1. Влияние времени и потенциала кондиционирования сенсора на параметры анодного пика аскорбиновой кислоты в фосфатном буферном электролите

Table 1. Effect of sensor conditioning time and potential on the anodic peak of ascorbic acid in phosphate buffer electrolyte

t , с	I , нА	$\pm C^*$, нА	S , нКл	$\pm C$, нКл	E , мВ
0	932	10	948	11	158
10	928	9	952	12	158
40	946	12	986	10	160
80	935	9	957	9	161
$-E$, с	I , нА	$\pm C$, нА	S , нКл	$\pm C$, нКл	E , мВ
500	955	4	980	7	161
400	956	5	978	6	160
300	959	3	978	6	160
200	956	4	986	8	160
100	959	5	983	7	161

* доверительный интервал.

*confidence interval.

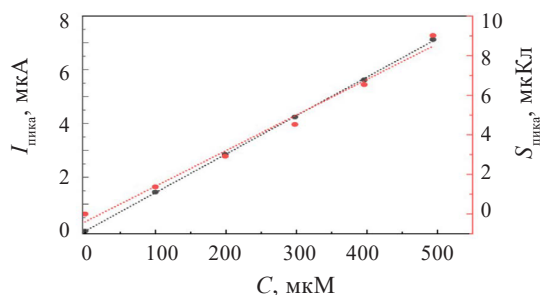


Рисунок 5. Калибровочные зависимости тока пика и площади пика от концентрации аскорбиновой кислоты, полученные с использованием волоконного сенсора из однослойных углеродных нанотрубок в фосфатном буферном электролите с pH 6,86

Figure 5. Peak current and peak area vs. concentration: calibration dependences obtained using a single-walled carbon nanotube fiber sensor in a phosphate buffer electrolyte with pH 6.86

зависимости линейны. Следовательно, волоконные сенсоры из однослойных углеродных нанотрубок пригодны для проведения вольтамперометрического анализа на содержание аскорбиновой кислоты.

Провели сравнительные испытания характеристик волоконных сенсоров однослойных углеродных нанотрубок и дисковых стеклоуглеродных электродов с диаметром рабочей поверхности $d = 5$ мм в идентичных условиях, которые показали пропорциональное изменение силы тока (в мкА) пиков окисления аскорбиновой кислоты от ее концентрации (в мкмоль/л) с коэффициентами пропорциональности $1,43 \pm 0,02 \times 10^{-2}$ и $8,6 \pm 0,5 \times 10^{-3}$ для однослойных углеродных нанотрубок и стеклоуглеродных электродов соответственно.

Таким образом, миниатюрный волоконный сенсор из сеток однослойных углеродных нанотрубок демонстрирует большую чувствительность вольтамперометрического определения аскорбиновой кислоты, чем электрод из стеклоуглерода. Кроме того, величины относительных стандартных отклонений для токов пиков в серии измерений в случае сенсоров однослойных углеродных нанотрубок не превышают 0,6 %, а для стеклоуглеродных электродов эти величины находятся в пределах 2–3 %.

Сенсоры демонстрируют высокую сходимость величин токов и площадей пиков при проведении долговременных испытаний. Провели исследование стабильности отклика сенсора в серии из 20 регистраций величины аналитического сигнала – пика аскорбиновой кислоты. Рассчитали границы довери-

тельного интервала: при доверительной вероятности 0,95 ток пика равен $2,85 \pm 0,05$ мкА для содержания аскорбиновой кислоты 200 мкмоль/л.

Выводы

Проведенные эксперименты показали возможность использования сенсоров на основе нового электроодного материала – волокон из сеток однослойных углеродных нанотрубок для электрохимического определения аскорбиновой кислоты в варианте линейной анодной постоянноточковой вольтамперометрии без накопления. Установили оптимальные условия подготовки сеток и волокон, обеспечивающие максимальный отклик и его воспроизводимость в течение длительного времени. Проведена оптимизация условий вольтамперометрического определения аскорбиновой кислоты с использованием электрода из сеток однослойных углеродных нанотрубок: исследуемый диапазон потенциалов от $-0,5$ до $+1,0$ В, время выдерживания при начальном потенциале 40 с, скорость сканирования 0,1 В/с. Линейность отклика на содержание аскорбиновой кислоты наблюдается в диапазонах концентраций 50–500 мкМ (8,8–88 мг/л).

Критерии авторства

С. Д. Шандаков – руководство работой, обсуждение результатов (20 %). Н. В. Иванова – руководство работой и анализ результатов (20 %). Е. А. Мартынова – выполнение экспериментов, анализ результатов (20 %). А. И. Вершинина – выполнение экспериментов (10 %). М. В. Ломакин – выполнение экспериментов (10 %). Г. О. Еремеева – консультирование (10 %). О. Р. Гордая – обработка результатов (10 %).

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Contribution

S.D. Shandakov (20%) and N.V. Ivanova (20%) supervised the research and analyzed the results. E.A. Martynova (20%), A.I. Vershinina (10%), and M.V. Lomakin (10%) performed the experiments and analyzed the obtained data. G.O. Eremeeva (10%) provided scientific consultations. O.R. Gordaya (10%) was responsible for data processing.

Conflict of interest

The authors declare that there is no conflict of interests regarding the publication of this article.

References/Список литературы

1. Baig N, Sajid M, Saleh TA. Recent trends in nanomaterial-modified electrodes for electroanalytical applications. Trends in Analytical Chemistry. 2019;111:47–61. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2018.11.044>
2. Gupta P, Rahm CE, Griesmer B, Alvarez NT. Carbon nanotube microelectrode set: Detection of biomolecules to heavy metals. Analytical Chemistry. 2021;93(20):7439–7448. <https://doi.org/10.1021/acs.analchem.1c00360>

3. Tu Y, Lin Y, Ren ZF. Nanoelectrode arrays based on low site density aligned carbon nanotubes. *Nano Letters*. 2003;3(1):107–109. <https://doi.org/10.1021/nl025879q>
4. Duzmen S, Baytak AK, Aslanoglu M. A novel voltammetric platform composed of poly(aminopyrazine), ZrO_2 and CNTs for a rapid, sensitive and selective determination of ascorbic acid in pharmaceuticals and food samples. *Materials Chemistry and Physics*. 2020;252. <https://doi.org/10.1016/j.matchemphys.2020.123170>
5. Pan PAN, Shou-Guo WU. Direct determination of ascorbic acid in fruits and vegetables by positive scan polarization reverse catalytic voltammetry. *Chinese Journal of Analytical Chemistry*. 2019;47(8):e19088–e19094. [https://doi.org/10.1016/S1872-2040\(19\)61175-8](https://doi.org/10.1016/S1872-2040(19)61175-8)
6. Muqaddas S, Aslam H, Hassan SU, Ashraf AR, et al. Electrochemical sensing of glucose and ascorbic acid via POM-based CNTs fiber electrode. *Materials Science and Engineering: B*. 2023;293. <https://doi.org/10.1016/j.mseb.2023.116446>
7. Nugent JM, Santhanam KSV, Rubio A, Ajayan PM. Fast electron transfer kinetics on multiwalled carbon nanotube microbundle electrodes. *Nano Letters*. 2001;1(2):87–91. <https://doi.org/10.1021/nl005521z>
8. Gong K, Chakrabarti S, Dai L. Electrochemistry at carbon nanotube electrodes: Is the nanotube tip more active than the sidewall? *Angewandte Chemie International Edition*. 2008;47(29):5446–5450. <https://doi.org/10.1002/anie.200801744>
9. Harreither W, Trouillon R, Poulin P, Neri W, Ewing AG, Safina G. Carbon nanotube fiber microelectrodes show a higher resistance to dopamine fouling. *Analytical Chemistry*. 2013;85(15):7447–7453. <https://doi.org/10.1021/ac401399s>
10. Yang C, Trikantopoulos E, Jacobs CB, Venton BJ. Evaluation of carbon nanotube fiber microelectrodes for neurotransmitter detection: Correlation of electrochemical performance and surface properties. *Analytica Chimica Acta*. 2017;965:1–8. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2017.01.039>
11. Shandakov SD, Kosobutsky AV, Vershinina AI, Sevostyanov OG, Chirkova IM, Russakov DM, et al. Electromechanical properties of fibers produced from randomly oriented SWCNT films by wet pulling technique. *Materials Science and Engineering: B*. 2021;269. <https://doi.org/10.1016/j.mseb.2021.115178>
12. Zhilyaeva MA, Shulga EV, Shandakov SD, Sergeichev IV, Gilshteyn EP, Anisimov AS, et al. A novel straightforward wet pulling technique to fabricate carbon nanotube fibers. *Carbon*. 2019;150:69–75. <https://doi.org/10.1016/j.carbon.2019.04.111>
13. Moisala A, Nasibulin AG, Shandakov SD, Jiang H, Kauppinen EI. On-line detection of single-walled carbon nanotube formation during aerosol synthesis methods. *Carbon*. 2005;43(10):2066–2074. <https://doi.org/10.1016/j.carbon.2005.03.012>
14. Zhang W, Chen J, Li Y, et al. Novel UIO-66- NO_2 @XC-72 nanohybrid as an electrode material for simultaneous detection of ascorbic acid, dopamine and uric acid. *RSC Advances*. 2017;7(10):5628–5635. <https://doi.org/10.1039/C6RA26933H>
15. Ma C, Xu P, Chen H, Cui J, Guo M, Zhao J. An electrochemical sensor based on reduced graphene oxide/ β -cyclodextrin/multiwall carbon nanotubes/polyoxometalate tetracomponent hybrid: Simultaneous determination of ascorbic acid, dopamine and uric acid. *Microchemical Journal*. 2022;180. <https://doi.org/10.1016/j.microc.2022.107533>
16. Filik H, Avan AA, Aydar S. Simultaneous detection of ascorbic acid, dopamine, uric acid and tryptophan with Azure A-interlinked multi-walled carbon nanotube/gold nanoparticles composite modified electrode. *Arabian Journal of Chemistry*. 2016;9(3):471–480. <https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2015.01.014>
17. Peng X, Xie Y, Du Y, Song Y, Chen S. Simultaneous detection of ascorbic acid, dopamine and uric acid based on vertical N-doped carbon nanosheets/three-dimensional porous carbon. *Journal of Electroanalytical Chemistry*. 2022;904. <https://doi.org/10.1016/j.jelechem.2021.115850>
18. Hsine Z, Bizid S, Mlika R, Sauriat-Dorizon H, Haj Said A, Korri-Yousoufi H. Nanocomposite based on poly (para-phenylene)/chemical reduced graphene oxide as a platform for simultaneous detection of ascorbic acid, dopamine and uric acid. *Sensors*. 2020;20(5). <https://doi.org/10.3390/s20051256>
19. Li H, Wang Y, Ye D, Luo J, Su B, Zhang S, et al. An electrochemical sensor for simultaneous determination of ascorbic acid, dopamine, uric acid and tryptophan based on MWNTs bridged mesocellular graphene foam nanocomposite. *Talanta*. 2014;127:255–261. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2014.03.034>
20. Aryal KP, Jeong HK. Carbon nanofiber modified with reduced graphite oxide for detection of ascorbic acid, dopamine, and uric acid. *Chemical Physics Letters*. 2020;739. <https://doi.org/10.1016/j.cplett.2019.136969>
21. Wang Y, Yang T, Hasebe Y, Zhang Z, Tao D. Carbon black-carbon nanotube co-doped polyimide sensors for simultaneous determination of ascorbic acid, uric acid, and dopamine. *Materials*. 2018;11(9). <https://doi.org/10.3390/ma11091691>
22. Fernandes DM, Costa M, Pereira C, Bachiller-Baeza B, Rodríguez-Ramos I, et al. Novel electrochemical sensor based on N-doped carbon nanotubes and Fe_3O_4 nanoparticles: Simultaneous voltammetric determination of ascorbic acid, dopamine and uric acid. *Journal of Colloid and Interface Science*. 2014;432:207–213. <https://doi.org/10.1016/j.jcis.2014.06.050>
23. Iranmanesh T, Foroughi MM, Jahani S, Zandi MS, Nadiki HH. Green and facile microwave solvent-free synthesis of CeO_2 nanoparticle-decorated CNTs as a quadruplet electrochemical platform for ultrasensitive and simultaneous detection of ascorbic acid, dopamine, uric acid and acetaminophen. *Talanta*. 2020;207. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2019.120318>
24. Singh A, Sharma A, Arya S. Electrochemical sensing of ascorbic acid (AA) from human sweat using Ni- SnO_2 modified wearable electrode. *Inorganic Chemistry Communications*. 2023;152. <https://doi.org/10.1016/j.inoche.2023.110718>
25. Compton RG, Banks CE. *Understanding voltammetry*. World Scientific, 2007. 371 p.

ИНФОРМАЦИЯ ДЛЯ АВТОРОВ

Журнал «Техника и технология пищевых производств (Food Processing: Techniques and Technology)» предназначен для публикации статей, посвященных проблемам пищевой и смежных отраслей промышленности.

Статья должна отвечать профилю журнала, обладать научной новизной, публиковаться впервые.

Рукопись научной статьи, поступившая в редакцию журнала «Техника и технология пищевых производств (Food Processing: Techniques and Technology)», рассматривается ответственным за выпуск на предмет соответствия профилю журнала и требованиям к оформлению, проверяется оригинальность представленного текста с помощью интернет-ресурсов – www.antiplagiat.ru и www.ithenticate.com, регистрируется.

В журнале публикуются только рукописи, текст которых рекомендован рецензентами.

Редакция организует «двухстороннее слепое» (анонимное) рецензирование представленных рукописей с целью их экспертной оценки. Выбор рецензента осуществляется решением главного редактора или его заместителя. Для проведения рецензирования рукописей статей в качестве рецензентов могут привлекаться как члены редакционной коллегии журнала «Техника и технология пищевых производств (Food Processing: Techniques and Technology)», так и высококвалифицированные ученые и специалисты других организаций и предприятий, обладающие глубокими профессиональными знаниями и опытом работы по конкретному научному направлению, как правило, доктора наук, профессора. Все рецензенты являются признанными специалистами по тематике рецензируемых материалов и имеют в течение последних 3 лет публикации по тематике рецензируемой статьи.

Рецензенты уведомляются о том, что присланные им рукописи являются частной собственностью авторов и относятся к сведениям, не подлежащим разглашению. Рецензентам не разрешается делать копии статей для своих нужд. Рецензирование проводится конфиденциально. Нарушение конфиденциальности возможно только в случае заявления рецензента о недостоверности или фальсификации материалов, изложенных в статье.

Срок рассмотрения статьи не должен превышать трех месяцев со дня получения статьи на рецензирование.

Оригиналы рецензий хранятся в издательстве и в редакции издания в течение пяти лет со дня публикации статей.

Если в рецензии на статью имеется указание на необходимость ее исправления, то статья направляется автору на доработку.

Если статья по рекомендации рецензента подверглась значительной авторской переработке, то она направляется на повторное рецензирование тому же рецензенту, который сделал критические замечания.

Редакция оставляет за собой право отклонения статей в случае неспособности или нежелания автора учесть пожелания редакции.

При наличии отрицательных рецензий на рукопись от двух разных рецензентов или одной рецензии на ее доработанный вариант статья отклоняется от публикации без рассмотрения другими членами редколлегии. Автору не принятой к публикации статьи ответственный за выпуск направляет мотивированный отказ. Фамилия рецензента может быть сообщена автору лишь с согласия рецензента.

Решение о возможности публикации после рецензирования принимается главным редактором, а при необходимости – редколлекцией в целом.

Редакция журнала направляет авторам представленных материалов копии рецензий или мотивированный отказ, а также обязуется направлять копии рецензий в Министерство науки и высшего образования Российской Федерации при поступлении в редакцию издания соответствующего запроса.

Редакция журнала не хранит рукописи, не принятые к печати. Рукописи, принятые к публикации, не возвращаются. Рукописи, получившие отрицательный результат от рецензента, не публикуются и также не возвращаются обратно автору.

Рукописи печатаются, как правило, в порядке очередности их поступления в редакцию. В исключительных случаях, редакционная коллегия имеет право изменить очередность публикации статей.

Все материалы журнала «Техника и технология пищевых производств (Food Processing: Techniques and Technology)» распространяются на условиях лицензии Creative Commons Attribution 4.0 International (CC BY 4.0).

ТРЕБОВАНИЯ К ОФОРМЛЕНИЮ СТАТЬИ

Объем статьи должен быть не менее 35–40 тыс. знаков (не включая списки литературы на русском и английском языках). Объем обзорной рукописи – более 40 тыс. знаков.

Оформление текста (форматирование): поля по 20 мм, одинарный интервал без переносов, лишних пробелов и абзацных интервалов, шрифт Times New Roman, 10 кегль. Следует избегать перегрузки статей большим количеством формул, дублирования одних и тех же результатов в таблицах и графиках.

Графики, диаграммы и т. п. (желательно цветные), созданные средствами Microsoft Office и Corel Draw, должны допускать возможность редактирования и направляются в редакцию отдельными файлами в форматах tiff, jpeg, cdr, excel.

Каждая таблица, график, диаграмма и т. п. должны иметь заголовки и порядковые номера, в тексте статьи должны присутствовать ссылки на каждую из них.

Структура статьи:

1. Тип статьи;
2. Название статьи;
3. Инициалы и фамилии всех авторов;
4. Официальное полное название учреждения;
5. E-mail автора, с которым следует вести переписку;
6. Аннотация (разбивается на разделы: «Введение», «Объекты и методы исследований», «Результаты и их обсуждение», «Выводы»);
7. Ключевые слова;
8. Финансирование;

9. Текст статьи (обязательные разделы: «Введение», «Объекты и методы исследований», «Результаты и их обсуждение», «Выводы»);
10. Критерий авторства;
11. Конфликт интересов;
12. Благодарности;
13. Список литературы;
14. Список литературы (References);
15. Сведения об авторах (на русском и английском языках).

Подать рукопись можно на сайте журнала <https://fptt.ru> или отправив на e-mail fptt98@gmail.com

В редакцию предоставляются:

1. Электронная версия статьи в программе MSWord. Файл статьи следует назвать по фамилии первого автора – ПетровГП.doc. Не допускается в одном файле помещать несколько документов;
2. Сканированная электронная версия статьи, подписанная всеми авторами, в программе PDF. Файл статьи следует назвать по фамилии первого автора – ПетровГП.pdf. Не допускается в одном файле помещать несколько документов;
3. Гарантийное письмо (скан-копия) на имя главного редактора журнала на бланке направляющей организации с указанием даты регистрации и исходящего номера, с заключением об актуальности работы и рекомендациями к опубликованию, с подписью руководителя учреждения;
4. Издательский лицензионный договор.

Более подробная информация на <https://fptt.ru>.

СОДЕРЖАНИЕ

Мельникова Е. И., Богданова Е. В., Рудниченко Е. С., Чекмарева М. С. Мицеллярный казеин в процессах сычужной коагуляции, обезвоживания и созревания сырной массы	642	Тужилкин В. И., Петров С. М., Подгорнова Н. М. Химико-термодинамические свойства чистых и многокомпонентных растворов сахарозы	742
Перевозчикова М. А., Домский И. А., Березина Ю. А., Сергеев А. А., Экономов А. В. Активность сывороточной щелочной фосфатазы у самцов лосей <i>Alces alces</i> (Linnaeus 1758) различных возрастных групп	652	Милентьева И. С., Веснина А. Д., Федорова А. М., Остапова Е. В., Ларичев Т. А. Биофункциональная активность <i>in vivo</i> хлорогеновой кислоты и биоханина А, выделенных из экстрактов каллусной культуры <i>Trifolium pratense</i> L.	754
Бородина А. В., Веляев Ю. О., Осокин А. Р. Комплексный методический подход в определении липидов моллюсков	662	Хериянто С., Ромуло А. Кетчуп из томатного жмыха: физико-химические, микробиологические и органолептические показатели	767
Ирокануло Э. О., Ядунг К.-Э. М., Оротайо Д. Э., Нwonума Ч. О., Алонге О. С. Дрожжи из соков кокоса и рафин: пробиотическая оценка <i>in vitro</i>	673	Сухов М. А., Гиро Т. М., Козлов С. В., Зирук И. В. Биомедицинские исследования на лабораторных животных сыровяленого мяса птицы, обогащенного пергой пчелиной	775
Козлова О. В., Величкович Н. С., Фасхутдинова Е. Р., Невверова О. А., Петров А. Н. Методы экстракции иммуномодуляторов растительного происхождения	680	Мотовилов О. К., Голуб О. В., Давыденко Н. И., Чекрыга Г. П., Степанова А. Г. Влияние упаковки на качество пищевых концентратов из корнеплодов	786
Молибоба Е. А., Баженова О. П. Технология культивирования <i>Limnospira fusiformis</i> из озера Соленого (г. Омск)	689	Шелехова Н. В., Абрамова И. М., Шелехова Т. М. Определение анионов неорганических кислот в спиртных дистиллированных напитках методом капиллярного электрофореза с кондуктометрическим детектированием	796
Мирошник А. С., Горлов И. Ф., Сложеникина М. И. Подходы к проектированию рецептур мясных продуктов с заданными показателями качества	699	Дюкова Е. А., Ульянова Е. Г., Осинцева М. А., Крюк В. А. Разработка агротехнологии получения посадочного материала, устойчивого к фитофагам и фитопатогенам	807
Кривонозова А. С., Донник И. М., Исаева А. Г., Логинов Е. А., Петропавловский М. В., Беспамятных Е. Н. Антибиотикорезистентность <i>Enterobacteriaceae</i> в микробиомах цыплят-бройлеров	710	Грачев А. В. Применение нейросетевых технологий для прогнозирования состояния работы объектов предприятий АПК	816
Сурай Н. М., Таточенко А. Л., Красильникова Е. А., Теплая Н. А., Михалев А. П., Жданова Г. П. Основные факторы успеха молочного производства в Чувашской Республике	718	Иванова Н. В., Мартынова Е. А., Вершинина А. И., Ломакин М. В., Еремеева Г. О., Гордая О. Р., Шандаков С. Д. Электрохимические сенсоры на основе сеток из однослойных углеродных нанотрубок для вольтамперометрического определения аскорбиновой кислоты	824
Кондратенко В. В., Посокина Н. Е., Захарова А. И., Королев А. А., Покудина Г. П. Влияние миграции зоны наименьшего прогрева на кинетику теплофизических процессов пищевых систем	731		

CONTENTS

Melnikova Elena I., Bogdanova Ekaterina V., Rudnichenko Elena S., Chekmareva Mariya S. Micellar Casein in Rennin Coagulation, Cheese Dehydration, and Ripening	643	Tuzhilkin Vyacheslav I., Petrov Sergey M., Podgornova Nadezda M. Chemical and Thermodynamic Properties of Pure and Multicomponent Sucrose Solutions	743
Perevozchikova Maria A., Domsy Igor A., Berezina Yulia A., Sergeyev Alexey A., Economov Alexandr V. Serum Alkaline Phosphatase in Free-Ranging Male Elks <i>Alces alces</i> (Linnaeus 1758) of Different Age Groups	653	Milentyeva Irina S., Vesnina Anna D., Fedorova Anastasiya M., Ostapova Elena V., Larichev Timothy A. Chlorogenic Acid and Biohanin A from <i>Trifolium pratense</i> L. Callus Culture Extract: Functional Activity <i>In Vivo</i>	755
Borodina Alexandra V., Veliaev Yurii O., Osokin Alexander R. Comprehensive Methodological Approach to Determining Lipids in Clams	663	Heriyanto Stefanny, Romulo Andreas Tomato Pomace Ketchup: Physicochemical, Microbiological, and Sensory Characteristics ...	766
Irokanulo Emenike O., Yadung Queen-Esther M., Orotayo Dolapo E., Nwonuma Charles O., Alonge Oreoluwa S. <i>In Vitro</i> Probiotic Evaluation of Yeasts from Coconut and Raffia Juices	672	Sukhov Maksim A., Giro Tatiana M., Kozlov Sergey V., Ziruk Irina V. Raw Cured Poultry Meat Fortified with Bee Pollen: Biomedical Research on Laboratory Animals	776
Kozlova Oksana V., Velichkovich Natalia S., Fashutdinova Elizaveta R., Neverova Olga A., Petrov Andrey N. Methods for Extracting Immune-Response Modulating Agents of Plant Origin	681	Motovilov Oleg K., Golub Olga V., Davydenko Nataliia I., Chekryga Galina P., Stepanova Alla G. Effect of Packaging on Instant Foods from Root Vegetables	787
Moliboba Elena A., Bazhenova Olga P. Cultivating <i>Limnospira fusiformis</i> from Lake Solenoye, Omsk	690	Shelekhova Nataliya V., Abramova Irina M., Shelekhova Tamara M. Inorganic Acid Anions in Distilled Alcoholic Beverages: Capillary Electrophoresis with Conductometric Detection	797
Miroshnik Alexei S., Gorlov Ivan F., Slozhenkina Marina I. Approaches to Developing New Complex Meat Products with Preset Quality	698	Dyukova Evgenia A., Ulyanova Ekaterina G., Osintseva Maria A., Kryuk Victoria A. Agricultural Technology for Phytophage and Phytopathogen Resistant Planting Material	808
Krивonogova Anna S., Donnik Irina M., Isaeva Albina G., Loginov Egor A., Petropavlovskiy Maxim V., Bespamyatnykh Elisley N. Antibiotic Resistance of <i>Enterobacteriaceae</i> in Microbiomes Associated with Poultry Farming	711	Grachev Aleksandr V. Neural Network Technologies in Predicting the Operating Status of Agricultural Enterprises	817
Suray Natalya M., Tatchenko Alexander L., Krasil'nikova Elena A., Teplaia Naila A., Mikhalev Alexey P., Zhdanova Galina V. Dairy Production in the Chuvash Republic: Success Factor Analysis	719	Ivanova Natalia V., Martynova Elizaveta A., Verшинina Anna I., Lomakin Maksim V., Eremeeva Galina O., Gordaya Olesya R., Shandakov Sergey D. Electrochemical Sensors Based on Single-Wall Carbon Nanotubes in Voltammetric Ascorbic Acid Tests	825
Kondratenko Vladimir V., Posokina Natalia E., Zakharova Anna I., Korolev Aleksei A., Pokudina Galina P. Effect of the Slowest Heating Zone Movement on Thermophysical Kinetics in Food Systems	732		