Том 54, № 2, 2024
Vol. 54, № 2, 2024

ISSN 2074-9414
ISSN 2313-1748

ТЕХНИКА И ТЕХНОЛОГИЯ ПИЩЕВЫХ ПРОИЗВОДСТВ

Food Processing: Techniques and Technology



Кемеровский государственный университет
Объединяем знания и людей

ТЕХНИКА И ТЕХНОЛОГИЯ ПИЩЕВЫХ ПРОИЗВОДСТВ Издается с 1998 года **№ 2 (54)**
(FOOD PROCESSING: TECHNIQUES AND TECHNOLOGY) ISSN 2074-9414 (Print) ISSN 2313-1748 (Online) **2024** **16+**

Национальный, рецензируемый научный журнал, посвященный вопросам пищевой промышленности и смежных отраслей. Журнал включен в **SCOPUS**, **RSCI**, Перечень ВАК (категория **К1**).

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; электротехнологии, машины и оборудование для агропромышленного комплекса. Подробная информация для авторов и читателей представлена на сайте https://fptt.ru

Главный редактор:

А.Ю. Просеков, член-корр. РАН, д-р техн. наук, д-р биол. наук, Кемеровский государственный университет, Кемерово, Россия.

Зам. главного редактора:

А.Н. Петров, академик РАН, д-р техн. наук, Всероссийский научно-исследовательский институт молочной промышленности, Москва, Россия;

О.О. Бабич, д-р техн. наук, Балтийский федеральный университет имени Иммануила Канта, Калининград, Россия.

Редакционная коллегия:

Е.В. Абакумов, профессор РАН, д-р биол. наук, Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия;

И.В. Алтухов, д-р техн. наук, ООО «Промышленные технологические инновации», Иркутск, Россия;

В.В. Бахарев, д-р хим. наук, Самарский государственный технический университет, Самара, Россия;

С.М. Бычкова, д-р экон. наук, Санкт-Петербургский государственный аграрный университет, Пушкин, Россия;

А.Г. Галстян, академик РАН, д-р техн. наук, Всероссийский научно-исследовательский институт молочной промышленности, Москва, Россия;

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

И.Ф. Горлов, академик РАН, д-р с.-х. наук, Поволжский научно-исследовательский институт производства и переработки мясо-молочной продукции, Волгоград, Россия;

Г.М. Гриценко, д-р экон. наук, Сибирский федеральный научный центр агробиотехнологий РАН, Краснообск, Россия;

Н.И. Дунченко, д-р техн. наук, Российский государственный аграрный университет – МСХА К.А. Тимирязева, Москва, Россия;

И.А. Евдокимов, член-корр. РАН, д-р техн. наук, Северо-Кавказский федеральный университет, Ставрополь, Россия;

А.В. Заушинцена, д-р биол. наук, Кемеровский государственный университет, Кемерово, Россия;

Ю. Йианг, Ph. D., Колледж пищевых наук Северо-Восточного сельскохозяйственного университета, Харбин, Китай;

А.П. Каледин, д-р биол. наук, Российский государственный аграрный университет – МСХА имени К.А. Тимирязева, Москва, Россия;

А.Б. Капранова, д-р физ.-мат. наук, Ярославский государственный технический университет, Ярославль, Россия;

Н.И. Кашеваров, академик РАН, д-р с.-х. наук, Сибирский федеральный научный центр агробиотехнологий РАН, Краснообск, Россия;

В.Г. Лобанов, д-р техн. наук, Кубанский государственный технологический университет, Краснодар, Россия;

Г.О. Магомедов, д-р техн. наук, Воронежский государственный университет инженерных технологий, Воронеж, Россия;

О.А. Неверова, д-р биол. наук, Кемеровский государственный университет, Кемерово, Россия;

С.Л. Тихонов, д-р техн. наук, Уральский государственный аграрный университет, Екатеринбург, Россия;

О.А. Фролова, д-р экон. наук, Нижегородский государственный инженерно-экономический университет, Княгинино, Россия;

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

В.Н. Хмелев, д-р техн. наук, Бийский технологический институт Алтайского государственного технического университета, Бийск, Россия;

Ю.С. Хотимченко, д-р биол. наук, Дальневосточный федеральный университет, Владивосток, Россия;

С.В. Шахов, д-р техн. наук, Воронежский государственный университет инженерных технологий, Воронеж, Россия;

И.В. Юдаев, д-р техн. наук, 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. Кирякова

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

Дата выхода в свет 08.08.24
Усл. п. л. 28,83. Тираж 500 экз.
Цена свободная. Выходит 4 раза в год

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

Свидетельство о регистрации СМИ ПИ № ФС77-72313 выдано Роскомнадзор

© Кемеровский государственный университет, 2024. © Авторы, 2024

Issued since 1998
ISSN 2074-9414 (Print) ISSN 2313-1748 (Online)
No. 2, Vol. 54, 2024

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 brieves in the following areas: food systems; biotechnology; food production technology; sanitation and health; ecology; biosecurity; zootechnics; electrotechnologies, 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, Corresponding Member of the RAS, Dr. Sci. (Eng.), Dr. Sci. (Biol.), Kemerovo State University, Kemerovo, Russia.

Deputy Editor-in-Chief

Andrey N. Petrov, Academician of the RAS, Dr. Sci. (Eng.), All-Russia Dairy Research Institute, Moscow, Russia;

Olga O. Babich, Dr. Sci. (Eng.), Immanuel Kant Baltic Federal University, Kaliningrad, Russia.

Editorial Board Member

Evgeny V. Abakumov, Professor of the RAS, Dr. Sci. (Biol.), St. Petersburg State University, St. Petersburg, Russia;

Igor V. Altukhov, Dr. Sci. (Eng.), Industrial Technological Innovations LLC, Irkutsk, Russia;

Vladimir V. Bakharev, Dr. Sci. (Chem.), Samara State Technical University, Samara, Russia;

Svetlana M. Bychkova, Dr. Sci. (Econ.), St. Petersburg State Agrarian University, Pushkin, Russia;

Aram G. Galstyan, Academician of the RAS, Dr. Sci. (Eng.), All-Russia Dairy Research Institute, Moscow, Russia;

Irina A. Ganieeva, Dr. Sci. (Econ.), Reasearch and Academic Centre «Kuzbass», Kemerovo, Russia;

Ivan F. Gorlov, Academician of the RAS, Dr. Sci. (Agr.), Povolzhsky Research Institute of Production and Processing of Meat and Dairy Products, Volgograd, Russia;

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

Nina I. Dunchenko, Dr. Sci. (Eng.), Russian State Agrarian University – Moscow Timiryazev Agricultural Academy, Moscow, Russia;

Ivan A. Evdokimov, Corresponding Member of the RAS, Dr. Sci. (Eng.), North-Caucasus Federal University, Stavropol, Russia;

Alexandra V. Zaushintsena, Dr. Sci. (Biol.), Kemerovo State University, Kemerovo, Russia;

Yujun Jiang, Ph.D., College of Food Science, Northeast Agricultural University, Harbin, China;

Anatoly P. Kaledin, Dr. Sci. (Biol.), Russian State Agrarian University – Moscow Timiryazev Agricultural Academy, Moscow, Russia;

Anna B. Kapranova, Dr. Sci. (Econ.), Yaroslavl State Technical University, Yaroslavl, Russia;

Nikolay I. Kashevarov, Academician of the RAS, Dr. Sci. (Agr.), Siberian Federal Scientific Centre of Agro-Bio Technologies of the Russian Academy of Sciences, Krasnoobsk, Russia;

Vladimir G. Lobanov, Dr. Sci. (Eng.), Kuban State Technological University, Krasnodar, Russia;

Gazibeg O. Magomedov, Dr. Sci. (Eng.), Voronezh State University of Engineering Technologies, Voronezh, Russia;

Olga A. Neverova, Dr. Sci. (Biol.), Kemerovo State University, Kemerovo, Russia;

Sergei L. Tikhonov, Dr. Sci. (Eng.), Ural State Agrarian University, Yekaterinburg, Russia;

Olga A. Frolova, Dr. Sci. (Econ.), Nizhni Novgorod Ingineering-economic State University, Knyaginino, Russia;

Gayrat Sh. Haydarov, PhD (Eng.), Uzbek-Finnish Pedagogical Institute, Samarqand, Uzbekistan;

Vladimir N. Khmelev, Dr. Sci. (Eng.), Biysk Technological Institute, Altai State Technical University, Biysk, Russia;

Yuri S. Khotimchenko, Dr. Sci. (Biol.), Far Eastern Federal University, Vladivostok, Russia;

Sergey V. Shakhov, Dr. Sci. (Eng.), Voronezh State University of Engineering Technologies, Voronezh, Russia;

Igor V. Yudaev, Dr. Sci. (Eng.), 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 August 08, 2024
Printed sheet 28.83 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*

© 2024, Kemerovo State University
© 2024, Authors

Колонка главного редактора
https://fptt.ru

Развитие молочной отрасли имеет стратегическое значение для обеспечения продовольственной независимости Российской Федерации. Согласно Доктрине продовольственной безопасности уровень самообеспеченности в отношении молока и молочной продукции является одним из самых высоких и должен составлять 90 %.

По итогам 2023 г. молочная отрасль России в текущих условиях продемонстрировала способность устойчиво развиваться и продемонстрировала способность обеспечивать внутренний рынок необходимыми объемами качественной продукции. Зафиксирован рост производства ключевых категорий молочных продуктов. В первые месяцы 2024 г. положительная динамика сохранилась.

Следует отметить, что основным драйвером развития российской молочной индустрии, наряду с производством других молокоемких продуктов, становится производство сыра. В 2023 г. впервые за современную историю России потребление сыров превысило 1 млн т. Среднегодовые темпы роста производства сыров составили около 11 %. За прошлый год российские сыроделы произвели 792,3 тыс. т сыров, что больше, чем в 2022 г., на 16 %. Согласно данным аналитического центра Milknews производство сыров в январе – апреле 2024 г. по сравнению с аналогичным периодом 2023 г. выросло на 14 % (до 258,2 тыс. т).

По оценкам BusinesStat, в 2019–2023 гг. производство сыра в России увеличилось на 40 %: с 540 до 758 тыс т. Отрасль демонстрирует уверенный и стабильный рост. По прогнозу Россельхозбанка, производство сыров в РФ к 2030 г. может достичь 1,1 млн т, а потребление может увеличиться с 7 до 9 кг на человека в год.

Положительное влияние на выпуск сыров в России оказало действующее с 2014 г. эмбарго. Введение в 2022 г. санкций также позитивно сказалось на темпах развития отечественного сыроделия и поднятия его на более высокий уровень. Российские сыроделы начали осваивать производство новых видов сыра, улучшать качество своей продукции и расширять ассортимент. В настоящее время некоторые сорта сыра, изначально представленные импортом, частично или полностью замещены отечественной продукцией. При этом российские производители предлагают более низкие цены, что делает их продукцию более доступной для широкого круга потребителей.

Признанным российским ученым в области биохимии сыроделия является профессор, доктор биологических наук, академик РАН Юрий Яковлевич Свириденко. Свою научную и профессиональную деятельность Юрий Яковлевич начал в 1973 г. в Алтайском филиале ВНИИМС. В 1977 г. он приехал в Углич на работу во ВНИИМС. В сложный период с 1999 по 2017 г. Юрий Яковлевич возглавлял этот институт. Благодаря его усилиям существенно укрепился авторитет ВНИИМС как научно-методического центра сыроделия и маслоделия, а также центра дополнительного профессионального образования. В настоящее время академик Ю. Я. Свириденко является главным научным сотрудником ВНИИМС и руководит Центром научно-прикладных исследований в области маслоделия и сыроделия.

Академик Ю. Я. Свириденко известен не только в России, но и за рубежом, как специалист в области создания способов регулирования процесса вкусообразования сыров, разработки научных основ технологий ускоренного созревания сыров, биотехнологии переработки молочной сыворотки, ферментированной модификации функциональных свойств белка молока и растительных, ресурсных для продуктов маслоделия и сыроделия, технологий и производства питательных сред для определения различных видов микроорганизмов в молоке и молочных продуктах, создании продуктов функционального назначения и комбинированных. Его научные труды также посвящены непрерывному гидролизу лактозы сыворотки иммобилизованной β-галактозидазой, что открыло возможности производства сахарозаменителей. Под его руководством и при непосредственном участии разработаны: технологии ферментативных гидролизатов сывороточных белков молока; технологии жидких молокосвертывающих ферментных препаратов. Использование таких ферментных препаратов позволяет изготовлять сыры, успешно конкурирующие с импортными сырами по цене и качеству. Технологии производства сыров, разработанные на основе результатов исследований Ю. Я. Свириденко, применяются более чем на 250 предприятиях России и стран СНГ.

Юрий Яковлевич ведет активную научную и общественную деятельность, занимается подготовкой научных кадров. Его труды вносят весомый вклад в науку и развитие молочной отрасли. Он является автором более 500 научных трудов, в том числе 42 патентов и авторских свидетельств на изобретение. Мнение Юрия Яковлевича по вопросам развития отрасли считается авторитетным и учитывается в Совете Федераций Государственной Думы, Министерстве сельского хозяйства РФ, Департаменте АПК региона.

30 августа 2024 г. академику РАН, доктору биологических наук, профессору Ю. Я. Свириденко исполняется 75 лет. Редакция журнала поздравляет Юрия Яковлевича с этой знаменательной датой. Искренне желаем крепкого здоровья и благополучия, неиссякаемой энергии и вдохновения для новых идей и научных свершений, счастья и спокойствия в кругу родных, 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

ISSN 2074-9414 (Print)
ISSN 2313-1748 (Online)

https://doi.org/10.21603/2074-9414-2024-2-2500
https://elibrary.ru/DOQLFK

Обзорная статья
https://fptt.ru

Микробная биофортификация злаковых культур: перспективы и текущее развитие

Д. Е. Колпакова, Ю. Р. Серазетдинова*, Н. В. Фотина, А. В. Заушинцена, Л. К. Асякина, А. И. Лосева

Кемеровский государственный университет, Кемерово, Россия

Поступила в редакцию: 29.03.2024
Принята после рецензирования: 17.04.2024
Принята к публикации: 07.05.2024

**Ю. Р. Серазетдинова: serazetdinova2000@mail.ru, https://orcid.org/0000-0002-3044-3529*
Д. Е. Колпакова: https://orcid.org/0000-0002-8508-3372
Н. В. Фотина: https://orcid.org/0000-0002-7655-0258
А. В. Заушинцена: https://orcid.org/0000-0003-4645-828X
Л. К. Асякина: https://orcid.org/0000-0003-4988-8197
А. И. Лосева: https://orcid.org/0000-0003-4037-2653

© Д. Е. Колпакова, Ю. Р. Серазетдинова, Н. В. Фотина, А. В. Заушинцена, Л. К. Асякина, А. И. Лосева, 2024

Аннотация.
Скрытый голод является социальной проблемой во многих странах мира и ежегодно провоцирует развитие алиментарно-зависимых заболеваний у населения. Одним из решений проблемы скрытого голода является биофортификация – термин, который объединяет совокупность методов селекции, генной инженерии, агрономии и микробиологии. Цель работы – анализ актуальных исследований зарубежных специалистов по вопросам микробной биофортификации и оценке потенциала использования микроорганизмов для обогащения зерновых культур биогенными элементами.
Объектом исследования являлись научные публикации зарубежных ученых за период 1984–2024 гг. Поиск научных источников осуществляли в базах данных Scopus, ScienceDirect и Google Scholar. Поисковые запросы включали следующие ключевые слова и словосочетания: biofortification, wheat, rice, oats, growth stimulation, antagonism и phytopathogens. Полученную информацию экспортировали из программного обеспечения Zotero в формате файла RIS. Обработку файла для анализа ключевых слов и представления их в графической форме осуществляли с помощью программы VOSviewer.
Основными механизмами микробной биофортификации являются фиксация атмосферного азота и солюбилизация биогенных элементов. Солюбилизация осуществляется за счет синтеза органических и неорганических кислот, протонов, сидерофоров, внеклеточных ферментов и других вторичных метаболитов. Микроорганизмы способны изменять экспрессию генов растений для лучшего поглощения и аккумуляции питательных элементов, а также архитектуру корневой системы растения для лучшего извлечения биогенных соединений из почвы. В работе обобщили сведения о лабораторных и полевых исследованиях микробной биофортификации зерновых культур. Микробной биофортификации подвергали рис, пшеницу, ячмень и т. д. Культуры обогащали такими элементами, как железо, селен, цинк, медь, марганец, азот, фосфор и калий.
Применение биофортификации на основе ростостимулирующих микроорганизмов является экологичным, надежным и экономически эффективным подходом в обеспечении продовольственной безопасности страны и рациональным решением проблемы скрытого голода. Полученные литературные данные могут лечь в основу разработки микробных препаратов для сельского хозяйства.

Ключевые слова. Биогенные вещества, скрытый голод, сельское хозяйство, микроорганизмы, азот, фосфор, цинк, железо

Финансирование. Работа выполнена в рамках государственного задания по теме «Исследование потенциала ростостимулирующих бактерий для повышения агрономической биофортификации пшеницы» (шифр FZSR-2024-0009).

Для цитирования: Микробная биофортификация злаковых культур: перспективы и текущее развитие / Д. Е. Колпакова [и др.] // Техника и технология пищевых производств. 2024. Т. 54. № 2. С. 191–211. https://doi.org/10.21603/2074-9414-2024-2-2500

https://doi.org/10.21603/2074-9414-2024-2-2500
https://elibrary.ru/DOQLFK

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

Microbial Biofortification of Grain Crops: Current State and Prospects

Daria E. Kolpakova, Yuliya R. Serazetdinova*, Natalya V. Fotina, Alexandra V. Zaushintsena, Lyudmila K. Asyakina, Anna I. Loseva

Kemerovo State University, Kemerovo, Russia

Received: 29.03.2024
Revised: 17.04.2024
Accepted: 07.05.2024

**Yuliya R. Serazetdinova: serazetdinova2000@mail.ru, https://orcid.org/0000-0002-3044-3529*
Daria E. Kolpakova: https://orcid.org/0000-0002-8508-3372
Natalya V. Fotina: https://orcid.org/0000-0002-7655-0258
Alexandra V. Zaushintsena: https://orcid.org/0000-0003-4645-828X
Lyudmila K. Asyakina: https://orcid.org/0000-0003-4988-8197
Anna I. Loseva: https://orcid.org/0000-0003-4037-2653

© D.E. Kolpakova, Yu.R. Serazetdinova, N.V. Fotina, A.V. Zaushintsena, L.K. Asyakina, A.I. Loseva, 2024

Abstract.
Hidden hunger is a significant social issue in numerous countries worldwide, causing the development of nutrition-related diseases among populations annually. Biofortification offers a sustainable solution as it combines methods of cross-breeding, genetic engineering, agriculture, and microbiology. The authors reviewed international studies in the field of microbial biofortification in order to assess the microbial potential to enhance the essential element content in grain crops.
The review featured relevant scientific articles published by foreign experts in Scopus, ScienceDirect, and Google Scholar in 1984–2024. The keywords included *biofortification*, *wheat*, *rice*, *oats*, *growth stimulation*, *antagonism*, and *phytopathogen*. The sources were processed in Zotero and VOSviewer.
Nitrogen fixation and nutrient solubilization are the main mechanisms of microbial biofortification. Solubilization occurs as a synthesis of organic and inorganic acids, protons, siderophores, extracellular enzymes, and other secondary metabolites. Microorganisms can improve the expression of plant genes in terms of absorption and nutrient accumulation. They also affect root systems, facilitating the extraction of nutrients from the soil. The authors summarized laboratory and field studies on microbial biofortification of rice, wheat, and barley with iron, selenium, zinc, copper, manganese, nitrogen, phosphorus, and potassium.
Biofortified growth-promoting microorganisms are a sustainable, reliable, and cost-effective approach to food security and hidden hunger issues. The review offers relevant information that can be used to develop new microbial preparations for the domestic agriculture.

Keywords. Nutrients, hidden hunger, agriculture, microorganisms, nitrogen, phosphorus, zinc, iron

Funding. The research was part of State Assignment FZSR-2024-0009: Growth-promoting biofortification of wheat.

For citation: Kolpakova DE, Serazetdinova YuR, Fotina NV, Zaushintsena AV, Asyakina LK, Loseva AI. Microbial Biofortification of Grain Crops: Current State and Prospects. Food Processing: Techniques and Technology. 2024;54(2):191–211. (In Russ.). https://doi.org/10.21603/2074-9414-2024-2-2500

Введение

Постоянный рост населения обуславливает потребность в увеличении мощностей агропромышленного комплекса. Для этого в сельскохозяйственную практику внедряются инструменты, которые позволяют добиться высокой продуктивности культур. Однако вопросам качества полученного урожая уделяется недостаточно внимания, несмотря на актуальность проблемы дефицита эссенциальных нутриентов у населения [1]. Такой дефицит называется скрытым голодом. При данном состоянии человек не испытывает потребности в увеличении количества пищи, но дефицит микро- и макроэлементов, витаминов наносит урон здоровью, провоцируя развитие алиментарно-зависимых заболеваний. Это становится социальной проблемой для нынешнего и будущих поколений [2, 3].

Основная причина развития скрытого голода у населения – низкое содержание незаменимых нутриентов в

основных продовольственных культурах, таких как рис, пшеница и кукуруза [4–6]. Это может быть связано с широким распространением высокоурожайных сортов и гибридов, которые характеризуются более низким содержанием питательных веществ в сравнении с традиционными сортами [4]. С другой стороны, накоплению нутриентов сельскохозяйственными культурами препятствует низкое плодородие возделываемых почв [7].

В качестве устойчивого пути обеспечения населения питательными веществами разработан ряд мероприятий, которые позволяют выращивать богатые микроэлементами (биообогащенные) сельскохозяйственные культуры с повышенной биодоступностью питательных веществ [8]. Эти мероприятия объединили общим термином биофортификация. Биофортификация высокоэффективна с точки зрения экономики, т. к. этот метод более рентабелен в сравнении с обогащением готовых продуктов питания [9]. Биофортификация осуществляется при помощи агрономических, селекционных, трансгенных и микробиологических подходов [10]. Известным примером биофортификации с помощью генной инженерии является разработка золотого риса. В 2000 г. немецкие профессора I. Potrykus и P. Beyer доказали возможность модификации генома белого риса для производства β-каротина – предшественника витамина А [11]. Несмотря на успешно проведенные исследования, проект не получил широкого признания. Это связано с обеспокоенностью общественности этическими вопросами производства генно-модифицированных культур.

К часто используемым методам биофортификации относят традиционные методы селекции [12, 13]. Данные методы направлены на отбор культур с наиболее высокими технологическими и питательными качествами, склонными к аккумуляции определенных питательных веществ. Селекция активно применяется для биообогащения пшеницы, риса, фасоли и других культур [14, 15]. Например, в странах Латинской Америки ученые получили 23 новых сорта фасоли с высоким содержанием железа [14]. Недавнее исследование позволило получить биообогащенные сорта пшеницы, в которых содержание цинка было увеличено на 74–79 % [16]. Эти сорта сохранили высокий уровень технологического качества, сравнимый с другими популярными сортами пшеницы в Южной Азии. Однако селекция характеризуется рядом недостатков. Не все культуры являются подходящим материалом для данного вида биофортификации. Целенаправленная селекция требует наличия достаточных генетических вариаций в зародышевой плазме для целевого микроэлемента [17]. Кроме того, традиционная селекция представляет собой долгосрочный и трудоемкий процесс, который требует большого количества ресурсов [18].

Агрономическая биофортификация, которая подразумевает внесение удобрений в почву или внекорневую подкормку, является распространенной практикой на территориях с дефицитом биогенных веществ в почвах. Полевые эксперименты, направленные на изучение роли удобрений в формировании питательной ценности зерен, показали, что наиболее оптимальной агрономической стратегией является внекорневая подкормка, в то время как внесение удобрений в почву мало эффективно [19]. Преимущество агрономической биофортификации перед генетической биофортификацией и селекцией заключается в том, что формы удобрений и методы их применения неспецифичны для сельскохозяйственных культур. Нормы внесения удобрений и способ их применения можно быстро адаптировать от одной культуры к другой, в то время как генетические и трансгенные методы биофортификации специфичны для каждой культуры. Тем не менее у агрономической биофортификации есть недостаток: применение данного метода может привести к экологическим проблемам [20].

Длительное применение минеральных удобрений вызывает изменения физических параметров почвы, что отрицательно сказывается на ее плодородии [21]. Биогенные вещества, содержащиеся в удобрениях (азот, фосфор и калий), накапливаются в почвах и модулируют процессы флокуляции-дисперсии и/или коагуляции, которые связаны с уплотнением почв. Уплотненная почва характеризуется меньшей пористостью, проницаемостью и влагоудерживающей способностью. Растворимость вносимых питательных веществ в такой почве снижается, что затрудняет поглощение биогенных элементов растениями [22].

Серьезный урон минеральные удобрения наносят биологическому состоянию почв. Изменения в физико-химических параметрах почвы приводят к снижению микробного разнообразия и активности почвенных ферментов [23]. Нарушение симбиотических связей повышает восприимчивость растений к болезням и снижает устойчивость к абиотическому стрессу [24].

Еще одной проблемой минеральных удобрений является их низкая эффективность. Например, фосфор характеризуется низкой доступностью для культур из-за медленной диффузии и высокой скорости фиксации в почве [25]. Около 70 % вносимых фосфорных удобрений через непродолжительное время становятся недоступными для растений за счет трансформации в нерастворимые комплексные соли кальция, алюминия и железа [26, 27]. Азотные удобрения в почве подвергаются выщелачиванию и денитрификации. В результате этого около 50 % из них становятся недоступными для растений. Часть азотсодержащих удобрений улетучивается в атмосферу, что составляет 80–90 % от общих антропогенных выбросов аммиака [28].

В контексте несостоятельности биообогащения сельскохозяйственных культур описанными ранее методами биофортификация с использованием микроорганизмов рассматривается как многообещающая стратегия для решения проблем повышения качества урожая и предотвращения развития скрытого голода

населения. Целью работы являлся анализ актуальных исследований зарубежных специалистов по вопросам микробной биофортификации и оценке потенциала использования микроорганизмов для обогащения зерновых культур биогенными элементами.

Объекты и методы исследования

Проанализировали зарубежную научную литературу, которая соответствует тематике микробной биофортификации, оценили количество доступных исследований и выделили главные характеристики этих работ. Поиск осуществляли в таких базах данных, как Scopus, ScienceDirect и Google Scholar. Для поиска данных использовали поисковые запросы по следующим ключевым словам и словосочетаниям: biofortification (биофортификация), wheat (пшеница), rice (рис), oats (овес), growth stimulation (стимуляция роста), antagonism (антагонизм) и phytopathogens (фитопатогены). В обзор включили публикации, текст которых находится в открытом доступе. Если полный текст публикаций не удалось обнаружить, то статью исключали из исследования. В работе также не учитывали дубликаты и статьи, несоответствующие тематике исследования. Информация о выбранных источниках была экспортирована из программного обеспечения Zotero в формате файла RIS. Обработку файла для анализа ключевых слов и представления их в графической форме осуществляли с помощью программы VOSviewer.

Результаты и их обсуждение

Описание отобранных публикаций. В ходе анализа 62 работ выделили 1733 ключевых слова, из которых отобрали 41, встречающееся более 2 раз. На рисунке 1 показана карта визуализации взаимосвязи между этими ключевыми словами.

Ключевые слова обозначены кругами разного цвета, размер которых варьируется в зависимости от частоты встречаемости (рис. 2). Связь между ключевыми словами обозначается с помощью цвета и линий. Результаты, полученные с помощью VOSviewer, показали, что чаще упоминаются следующие ключевые слова (за исключением основных понятий): biosynthesis, *Bacillus*, enzyme, solubilization, antagonistic activity, indolylacetic acid, fungi, rhizobacterium и др.

Провели анализ частоты встречаемости ключевых слов в зависимости от года публикации статьи. Рисунок 3 отражает полученные результаты.

Наибольшее количество работ принадлежало временному промежутку с 2012 по 2020 гг. Наиболее активный рост числа публикаций по бифортификации наблюдался в период с 2015 г.

Перспективы применения микробной биофортификации. Биофортификацию сельскохозяйственных культур актуально осуществлять с использованием микробных удобрений. Растения и микроорганизмы эволюционировали совместно, а взаимодействия между надземной и подземной биотой считаются основными

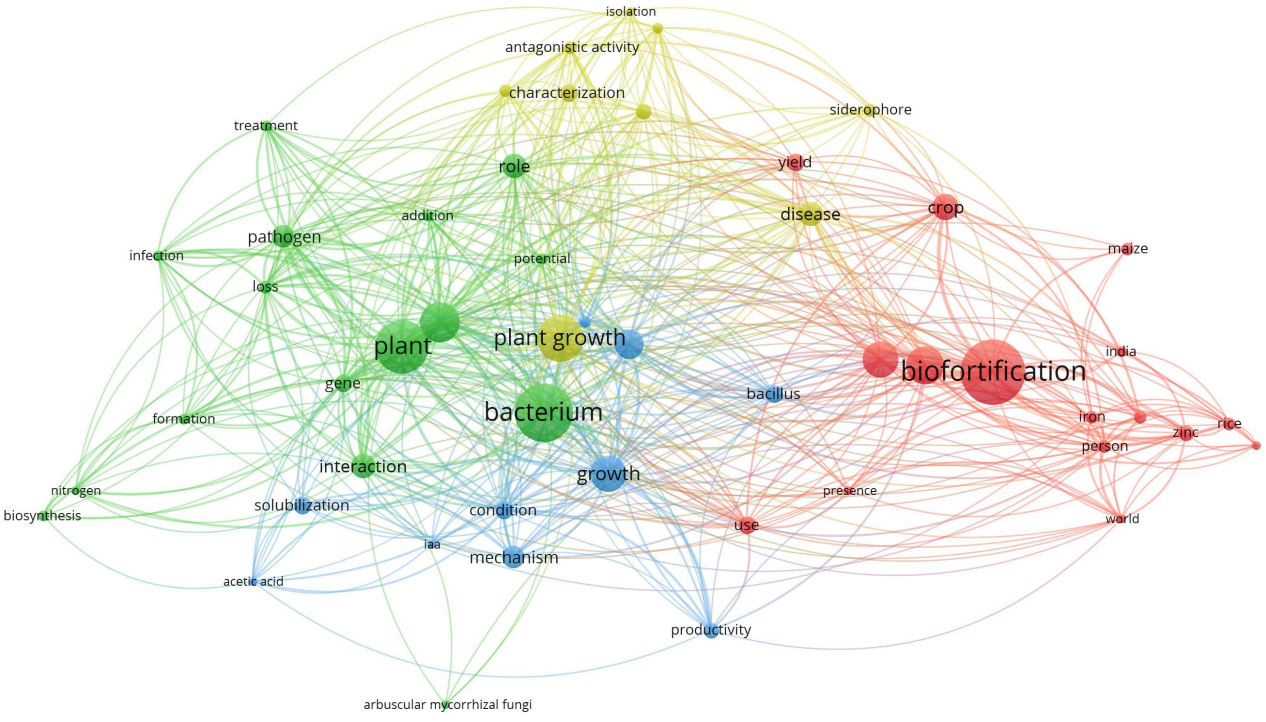


Рисунок 1. Взаимосвязь между ключевыми словами

Figure 1. Keyword net

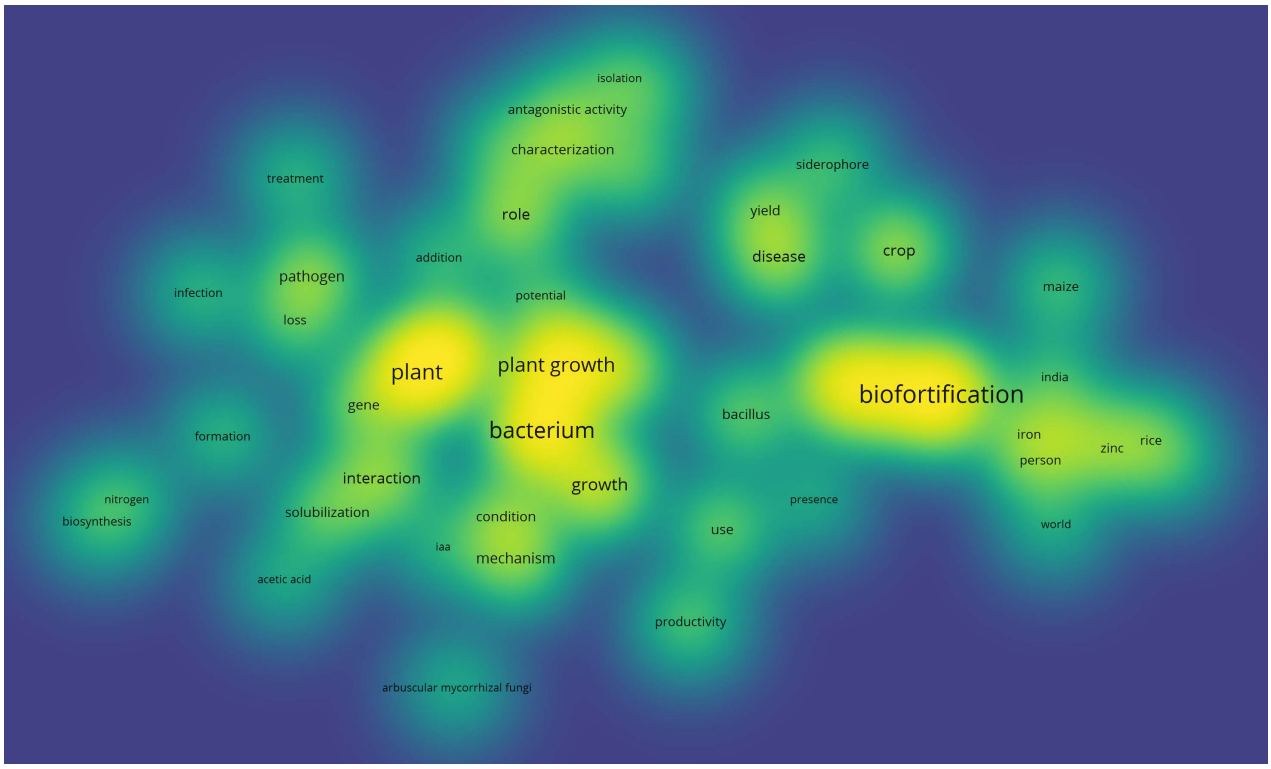


Рисунок 2. Частота встречаемости ключевых слов

Figure 2. Keyword frequency

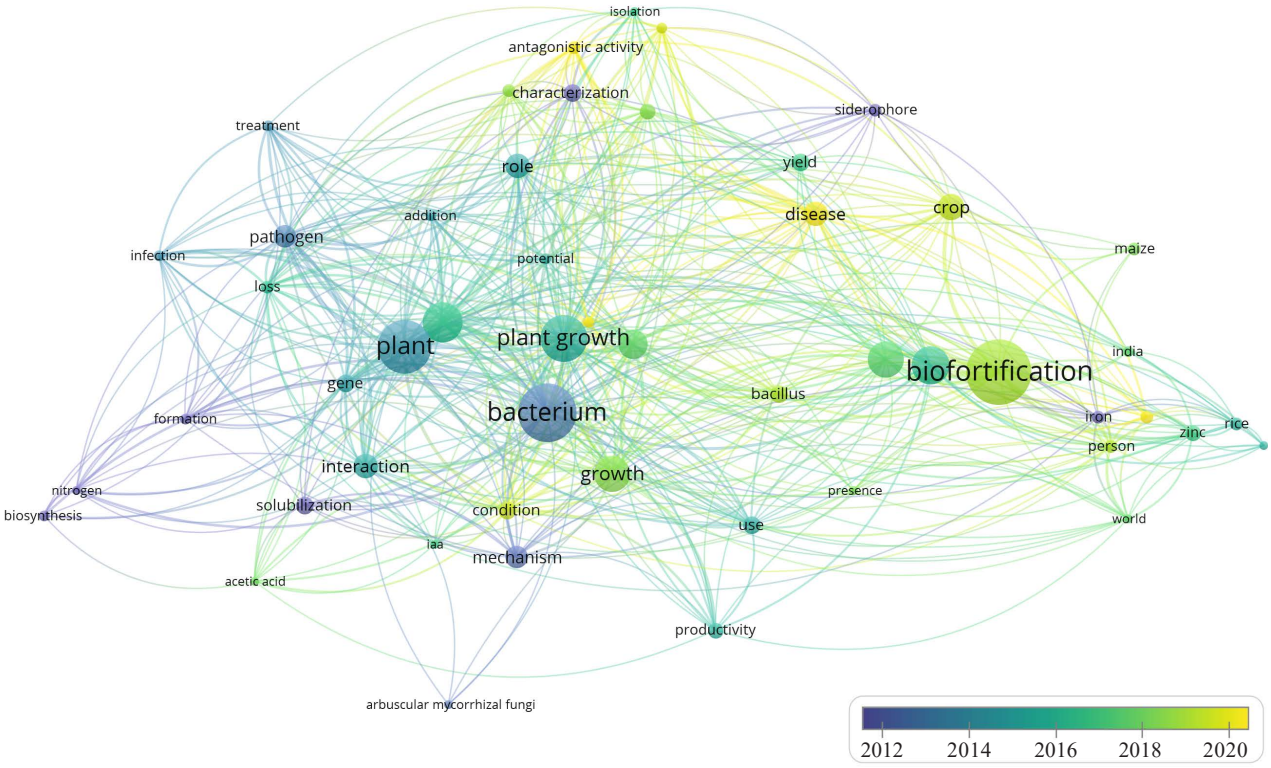


Рисунок 3. Частота встречаемости ключевых слов по годам

Figure 3. Keyword frequency by year

факторами поддержания здоровья почвы и продуктивности сельскохозяйственных культур [29]. Более 20 000 видов растений демонстрируют облигатные симбиотические ассоциации с микроорганизмами [30]. Это отражает значение микроорганизмов в круговороте питательных веществ как движущей силы продуктивности растений.

Среди различных типов микроорганизмов наиболее изученной группой являются микроорганизмы, которые стимулируют рост растений. Они используют один или несколько прямых и косвенных механизмов для улучшения роста растений. Основной механизм действия заключается в увеличении доступности питательных веществ в области ризосферы [31]. В метаболически активной области почвы, известной как ризосфера, происходит выделение, мобилизация и обеспечение растений не только макро- и микроэлементами. Важную роль в процессах играют ростостимулирующие микроорганизмы. Они повышают подвижность питательных веществ и изменяют морфологию корней растений, что приводит к увеличению площади корневой поверхности и более эффективному усвоению питательных веществ из почвы [32, 33]. Исследования природных популяций показывают, что группы микроорганизмов с четко выраженными функциональными нишами участвуют в прикреплении и десорбции неорганических питательных веществ, а также в расщеплении органических остатков и их преобразовании в доступную для растений форму [34–37]. Помимо этого, микроорганизмы обладают другими полезными для растений свойствами. Например, продуцируют фитогормоны, проявляют антагонистическую активность в отношении фитопатогенов и повышают устойчивость растения к абиотическим стрессам. Комплексное положительное влияние микроорганизмов на растения обусловлено увеличением потенциала их применения в сельском хозяйстве [38].

Механизмы биофортификации, опосредованной микроорганизмами. Ростостимулирующие микроорганизмы играют важную роль в азотном питании растений. S. T. Ramírez-Puebla и др. обнаружили, что 50 % биологически доступного почвенного азота производится диазотрофными бактериями. Согласно другому исследованию микробиота ежегодно осуществляет фиксацию 200 млн т азота во всем мире [39].

Процесс трансформации азота микроорганизмами в доступную для растений форму называется азотфиксацией. Под данным термином понимается процесс превращения газообразного N_2 в NH^{4+} [40]. Процесс азотфиксации, инициируемый микроорганизмами, можно описать как серию последовательных реакций: молекула азота превращается в аммиак в результате азотфиксации, аммиак в биологический органический азот путем ассимиляции и поглощения, а органический азот в аммонийную соль [41, 42]. Этот процесс позволяет растению полностью или частично удовлетворить потребности в азоте за счет взаимодействия с эндосимбиотическими, ассоциативными и эндофитными микроорганизмами. Азотфиксирующие микроорганизмы характеризуются конкурентным преимуществом перед нефиксирующими азот симбионтами [43, 44]. Обнаруженные азотфиксирующие микроорганизмы относятся к прокариотическому сообществу и разделены на 59 родов. Классификация азотфиксирующих бактерий приведена на рисунке 4.



Рисунок 4. Классификация азотфиксирующих бактерий

Figure 4. Classification of nitrogen-assimilating bacteria

Процесс фиксации азота наиболее изучен для ризобий (роды *Rhizobium*, *Bradyrhizobium*, *Mesorhizobium* и *Sinorhizobium*). Эти микроорганизмы вступают в симбиотические взаимодействия с бобовыми, способствуя образованию специализированных органов – клубеньков, которые фиксируют атмосферный азот за счет белкового комплекса нитрогеназы, подразделяемого на динитрогеназу и динитрогеназоредуктазу [45, 46]. Молибдензависимая динитрогеназа образуется продуктами генов nifD и nifK, а динитрогеназоредуктаза представляет собой гомодимер продукта гена nifH [47]. В зависимости от кофактора активного центра, связывающего металл, в природе существует три типа динитрогеназы. Молибденнитрогеназа вырабатывается у всех диазотрофов в природе, в то время как ванадийную или железную нитрогеназу в дополнение к Mo-нитрогеназе продуцируют лишь некоторые виды [48, 49].

Симбиоз бобовых растений и ризобий начинается с передачи молекулярных сигналов, контролируемых каскадом генов. Растения выделяют сигналы, такие как флавоноиды (например, флавон, 7,4-дигидроксифлавон, изофлавон и генистеин), которые улавливаются бактериями в ризосфере [50]. Это приводит к выработке Nod-факторов, которые запускают процесс образования клубеньков [51]. Начинается деление кортикальных и перициклических клеток и бактериальная колонизация [52]. В процессе «созревания» клубеньков бактерии заключаются в симбиосомную мембрану. В ней они находятся в микроаэробной среде (с более низкой концентрацией кислорода) и дифференцируются в бактероиды, фиксируя диффузионный газообразный азот [53].

Несмотря на то что симбиотическая азотфиксация распространена у бобовых, существуют микроорганизмы, в том числе некоторые диазотрофы, которые населяют ризосферу других сельскохозяйственных растений. В связи с этим дальнейшее изучение механизмов, задействованных в формировании симбиотических отношений между растениями и микроорганизмами, поможет адаптировать данный процесс для небобовых культур [54, 55].

Улучшение питания растений с помощью микроорганизмов не ограничивается фиксацией атмосферного азота. Микроорганизмы играют важную роль в снабжении растений железом. Хелатирование Fe^{3+} является наиболее эффективным путем поглощения железа корнями растений в условиях дефицита данного биогенного металла [56]. Микроорганизмы производят сидерофоры, которые представляют собой низкомолекулярные органические соединения с сильным сродством к железу. Сначала сидерофоры образуют комплекс с Fe^{3+}, а затем этот комплекс проникает в клетку через специфические рецепторы, расположенные на клеточной мембране. У грамположительных бактерий транспорту комплекса сидерофор – железо в клеточные мембраны – способствуют сидерофорсвязывающие белки, пермеазы и АТФазы, тогда как у грамотрицательных бактерий это опосредуется рецептором внешней мембраны, периплазматическим связывающим белком и цитоплазматическим ABC-транспортером [57]. Когда

Таблица 1. Микроорганизмы, способствующие накоплению железа в растениях

Table 1. Microbial accumulation of iron in plants

Наименование микроорганизма	Культура	Уровень повышения содержания железа, %	Источник
Bacillus subtilis ZM63, *Bacillus aryabhattai* ZM31	Кукуруза	78	[62]
Pseudomonas plecoglossicida, *Bembidion antiquum*, *Enterobacter ludwigii*, *Acinetobacter tandoii*, *Pseudomonas monteilii*	Нут, голубиный горох	12–18	[63]
Bacillus aryabhattai MDSR 14	Соя	36	[64]
Арбускулярная микориза	Нут	5	[66]
Enterobacter cloacae subsp. *dissolvens* MDSR9	Соя	25	[64]

Таблица 2. Микроорганизмы, синтезирующие органические кислоты для солюбилизации цинка

Table 2. Microbial production of organic acids for zinc solubilization

Наименование микроорганизма	Органическая кислота	Источник
Bacillus megaterium	Глюконовая	[76]
Lysinibacillus sp.	Глюконовая	[76]
Pseudomonas aeruginosa	2-кетоглюконовая	[77]
Burkholderia sp.	Глюконовая	[78]
Pseudomonas chlororaphis	Глюконовая, малоновая, щавелевая	[79]
Streptomyces narbonensis	Лимонная, яблочная, 2-оксоглутаровая, янтарная	[79]
Curtobacterium ocenosedimentum	Лимонная, малоновая, 2-оксоглутаровая, янтарная	[80]
Gluconacetobacter diazotrophicus	5-кетоглюконовая	[71]
Bacillus altitudinis	Гексановая, пентановая, миндальная	[75]

железо, связанное сидерофором, попадает в цитоплазму, то его трехвалентная форма восстанавливается до двухвалентной и отделяется от сидерофора [58]. Высвобожденное в результате данного процесса Fe^{2+} становится доступным для транспортной системы растений [59]. Различные виды семейства *Rhizobiaceae* производят сидерофоры как в ризосфере бобовых, так и небобовых растений в условиях дефицита железа [60, 61]. Многие микроорганизмы способствуют усиленному накоплению данного элемента в растениях (табл. 1).

Помимо сидерофоров, микробы производят хелаторы, которые могут повысить доступность ионов определенных металлов. S. N. Whiting и др. предположили, что многие бактерии производят цинк-хелатирующие металлофоры, которые способствуют увеличению количества водорастворимого (биодоступного) цинка в почве [66]. M. C. Mastropasqua и др. сообщили, что *Pseudomonas aeruginosa* продуцируют в окружающую среду металлофор, который опосредует поглощение цинка в микробной клетке [67]. S. Lhospice и др. предположили, что псевдолиновый металлофор является основным медиатором поглощения цинка в хелатирующей среде [68].

Солюбилизация цинка микроорганизмами может осуществляться с помощью других механизмов: синтеза органических кислот или экструзии протонов [69]. Органические кислоты, продуцируемые микроорганизмами, снижают pH ризосферы и почвы вокруг нее, тем самым увеличивая подвижность цинка. Главную роль в мобилизации цинка играют глюконовая и кетоглюконовая кислоты [70–72]. Они продуцируются бактериями различных типов (табл. 2). Производство лимонной, яблочной, щавелевой, винной, муравьиной и уксусной кислот связано с солюбилизацией цинка бактериями [73, 74]. *Bacillus altitudinis*, выделенная в исследовании P. Kushwaha с соавторами, демонстрировала способность к солюбилизации трех источников цинка, в частности ZnO, $Zn_3(PO_4)_2$ и $ZnCO_3$. Исследования показали, что солюбилизирующая активность основана на синтезе гексановой, пентановой и миндальной кислот [75]. Неорганические кислоты, а именно серная, азотная и угольная, способны облегчить процесс солюбилизации, но являются менее эффективными в сравнении с органическими.

Благодаря действию микроорганизмов увеличивается способность растений к поглощению цинка, что приводит к его аккумуляции. Например, наличие органических кислот, производимых *Enterobacter cloaceae* MDSR9, обуславливает более интенсивное поглощение и накопление цинка в соевых бобах [64]. Это является основой для использования цинксолюбилизирующих бактерий в сельском хозяйстве в качестве устойчивой стратегии для биофортификации сельскохозяйственных культур цинком.

Важную роль микроорганизмы играют в повышении доступности фосфора. Преобладающими путями распространения фосфора являются минерализация, солюбилизация и иммобилизация. Эти процессы опосредованы фосфатсолюбилизирующими микроорганизмами и зависят от содержания в почве неорганических минералов фосфора. Основные стратегии, используемые солюбилизирующими микроорганизмами для растворения фосфатов, включают выделение органических кислот, протонов и сидерофоров; экскрецию внеклеточных ферментов; деградацию субстрата посредством минерализации [81]. Соляная, серная, азотная и угольная кислоты, продуцируемые микроорганизмами, участвуют в растворении фосфатов, но обладают более низкой эффективностью в сравнении с органическими кислотами. Механизм производства неорганических кислот, таких как азотная и серная, используется видами *Nitrobacter* и *Thiobacillus* [82]. Ацидофильные и сероокисляющие бактерии производят сероводород как побочный продукт при разложении органического вещества, сульфатного восстановления и других биохимических реакций. Сероводород вступает в реакцию с фосфатом железа, что приводит к выделению связанного фосфора [83]. Исследования показали, что сероокисляющие бактерии *Delftia* sp. SR4 автотрофно окисляли 20 мМ тиосульфата и 1 $г^{-1}$ элементарной серы до 220 и 203 мг/л сульфата за 7 дней в аэробных условиях. Растения *Brassica juncea*, обработанные этим штаммом, усваивали на 116 % больше фосфора, чем неинокулированные [84].

Протонная экструзия является альтернативным способом растворения фосфора в почве микроорганизмами [85]. В культуральной жидкости *Pseudomonas* sp. наблюдали растворение фосфора, но не образование органических кислот [86]. Ученые предположили, что данный эффект обусловлен протонной экструзией, которая протекает по следующему механизму: аммоний, присутствующий в почве, усваивается микроорганизмами для синтеза аминокислот. Внутри микробной клетки аммоний превращается в аммиак, а избыток протона H+ высвобождается в цитоплазму микробной клетки. Это подкисляет среду, окружающую микробную клетку, и способствует растворению нерастворимых фосфатов [87]. A. S. Sharan и N. S. Darmwal представили доказательства того, что количество растворенного фосфора во время культивирования было больше при использовании NH^{4+} в качестве источника азота в сравнении с NO^{3-} [88]. Такой механизм растворения фосфора преобладает у небольшого числа микроорганизмов [89].

Еще одним механизмом трансформации фосфора микроорганизмами является синтез кислых и щелочных фосфатаз [89]. Щелочные фосфатазы гидролизуют около 90 % общего органического фосфора почвы и преобразуют его в доступную для растений форму [90]. Обработка почвы очищенными щелочными фосфатазами *Bacillus licheniformis* MTCC 2312 увеличивала процентное содержание фосфора в корне и стебле *Zea mays* L. в 2,35 и 1,76 раза соответственно [91]. Совместная инокуляция в почве фосфатсолюбилизирую-

щего гриба *Talaromyces helices* L7B и арбускулярного микоризного гриба *Rhizophagus ignores* повышала активность щелочной фосфатазы почвы (459,38 МЕ), по сравнению с необработанной почвой (47,86 МЕ), а также улучшала содержание растворимого в почве фосфора на 50 % по сравнению с контролем [92].

Микробные фитазы обеспечивают извлечение фосфора из фитатных соединений, которые представляют собой органическую форму фосфора [89]. Это имеет значение для повышения доступности фосфора, т. к. растения не способны усваивать фитаты. Исследования показали, что микроорганизмы играют важную роль в минерализации фитатов. Внедрение гена phy A из *Aspergillus niger* в *Arabidopsis* способствовало улучшению фосфорного питания растения [93].

Микроорганизмы участвуют в трансформации селена, а также влияют на его биодоступность посредством окисления, восстановления и метилирования во время метаболических процессов. Способность к повышению биодоступности селена подтверждена у различных микробов, таких как *Bacillus*, *Escherichia*, *Lactobacillus*, *Pseudomonas* и т. д. [94, 95]. G. Trivedi и др. выделили *Paraburkholderia megapolitana*, *Alcaligenes faecalis* и *Stenotropomonas maltophilia*, способные повышать доступность селена в почвах [96]. Синергизм между ростостимулирующими бактериями и микоризными грибами играет важную роль в повышении концентрации селена. При инокуляции растений штаммами селенобактерий и *Glomus claroideum* концентрация селена в зерне была на 23,5 % выше, чем у контрольных вариантов. Такой синергизм может быть связан с тем, что селенобактерии способны получать питание из гиф арбускулярной микоризы или эктомикоризных грибов [97, 98].

Диссимиляционное восстановление является основным путем микробной трансформации селена. Большинство штаммов способно восстанавливать как селенит, так и селенат до элементарного селена [99]. Широко изученная *β*-протеобактерия *Thaurea selenatis* преобразует селенат в наноселен. Эта бактерия является анаэробной и использует селенат в качестве терминального акцептора электронов в процессе дыхания [100]. M. Sura-de Jong и др. сравнили структуры микробного сообщества двух гипераккумуляторов селена – *Astragalus bisulcatus* и *Stanleya pinnata*. Исследования показали, что их характеристики являлись схожими, и все выделенные штаммы обладали функцией восстановления селенита до элементарного селена [101].

Перспективным в биофортификации свойством микроорганизмов является способность усиливать транспорт биогенных элементов в растениях посредством экспрессии определенных генов. Например, *Paenibacillus polymyxa* BFKC01 увеличивает высвобождение растениями фенольных соединений за счет активации мембраносвязанной железохелатредуктазы *FRO2* и переносчика двухвалентных металлов *IRT1* и родственных генов [102]. Исследования Z. Sun и др. показали, что эндофитные микроорганизмы способны к экспрессии генов пшеницы, отвечающих за транспорт железа (например, *IRT1* и *NAM-B1*), а также генов, отвечающих за секвестрацию и хранение железа в различных тканях/органах растений [103]. Ряд микроорганизмов обладает способностью модулировать системы поглощения различных питательных веществ растениями, особенно азота, фосфора и натрия [101, 104]. Существуют данные о влиянии микроорганизмов на растительные переносчики микроэлементов, таких как цинк и железо [105]. В некоторых случаях инокуляция микроорганизмами индуцировала экспрессию генов, связанных с синтезом микроэлементов. Например, инокуляция масличных пальм *Hendersonia toruloidea* привела к более высокой экспрессии THI4, THIC, TH1 и TPK, которые связаны с синтезом тиамина [18, 106]. Инокуляция *Pseudomonas fluorescens* N21.4 привела к увеличению экспрессии нескольких генов биосинтеза флавоноидов у ежевики [107].

Важным механизмом биофортификации различных элементов является трансформация корневой системы растения под действием микроорганизмов. Глубокая корневая система и большая площадь поверхности корня являются адаптивными признаками растений-гипераккумуляторов. Предыдущие исследования показали, что инокуляция эндофитами, продуцирующими сидерофоры или солюбилизирующими цинк, улучшала длину корня, площадь поверхности, объем и диаметр корня, а также среднее количество кончиков корней. Это способствовало обогащению зерна железом и цинком. Помимо морфологии корня, изменялись также его анатомические особенности [108, 109].

Микробная биофортификация зерновых культур. К наиболее часто возделываемым сельскохозяйственным культурам относят рис, пшеницу, кукурузу, сорго, ячмень, просо и овес. Несмотря на то что они обеспечивают питанием большую часть населения, их состав характеризуется недостатком многих важных биогенных элементов. В рисе наблюдается дефицит железа, цинка и провитамина А, что является основной причиной скрытого голода в регионах, употребляющих данную культуру [110]. Пшеница нуждается в биофортификации цинком, железом, селеном, провитамином А и незаменимыми аминокислотами. Перспективной стратегией повышения пищевой ценности пшеницы является снижение содержания антипитательных соединений, например, фитиновой кислоты [111]. В кукурузе обнаружен дефицит витаминов Е (токоферола и токотриенола), С и А, а также белка [111]. Ячмень содержит недостаточное количество цинка, железа, полиненасыщенных жирных кислот и т. д. [112].

Устойчивой стратегией биообогащения зерновых культур биогенными элементами является биофортификация с применением микроорганизмов. На данный момент существует большое количество исследований, подтверждающих эффективность данного метода (табл. 3).

Таблица 3. Примеры микробной биофортификации зерновых культур

Table 3. Microbial biofortification of grain crops

Наименование микроорганизма	Элементы	Обогащаемая культура	Источник
Chitinophaga sp., *Comamonas testosteroni*	Se	Рис	[113]
Bacillus subtilis, арбускулярная микориза	Zn, Fe	Пшеница	[114]
Stenotropomonas sp., *Enterobacter* sp., *Bacillus* sp., *Pseudomonas* sp., *Glomus claroideum*	Se	Пшеница	[115]
Piriformospora indica, *Azotobacter chroococcum*	Zn, Fe	Пшеница	[116]
Pseudomonas fluorescens	Zn	Пшеница	[117]
Bacillus aryabhattai	Zn, Fe	Пшеница	[118]
Providencia sp., *Brevundimonas diminuta*, *Ochrobactrum anthropi*	Fe, Zn, Cu, Mn	Рис, пшеница	[119]
Bacillus licheniformis, *Rhodobacter capsulatus*, *Paenibacillus polymyxa*, *Pseudomonas putida*, *Bacillus*	N, Fe, Mn, Zn	Ячмень	[120]
Bacillus altitudinis	N, K, Fe	Пшеница	[121]
Exiguobacterium aurantiacum	Zn, Fe, N, P, K	Пшеница	[122]
Klebsiella sp.	Se	Пшеница	[123]

Биофортификация на основе микроорганизмов регулирует содержание микроэлементов в зерне, повышает их биодоступность и снижает потребность в удобрениях при производстве зерновых культур. Микроорганизмы играют решающую роль в биообогащении зерновых культур цинком и железом [124, 125]. Ризосферные и эндофитные микроорганизмы влияют на биодоступность микроэлементов для растений. Однако эндофитные микроорганизмы считаются более перспективными агентами для усиления поглощения и транслокации железа и цинка, поскольку косвенно влияют на регуляцию переносчиков металлов. Эндофитные микроорганизмы *Arthrobacter sulfonivorans* (DS-68) и *Enterococcus hirae* (DS-163) способствовали накоплению железа в зернах пшеницы [109, 126]. Ростостимулирующую ризобактерию *P. fluorescens* можно применять для накопления цинка в зернах пшеницы [127]. A. Rana и др. сообщили, что содержание железа в зернах пшеницы увеличилось при инокуляции культуры *Providencia* sp. ПВ5 [125]. R. Prasanna и др. отметили влияние ризосферных микроорганизмов на биообогащение цинком кукурузы [128]. Инокуляция пшеницы *Bacillus cereus*-YAP6 и *B. licheniformis*-YAP7 привела к увеличению концентрации селена, серы, кальция и железа в стеблях до 375, 40, 55 и 104 % соответственно [129]. *Pantoea dispersa* MPJ9 и *Pseudomonas putida* MPJ6 увеличили содержание железа, белка и углеводов в пшенице [130].

Метаболиты *Acetobacter aceti* изменяют метаболические процессы ячменя, что способствует повышению содержания витаминов в зерне [131]. Увеличение поглощения азота, железа, марганца и цинка в ячмене наблюдалось при обработке азотфиксирующими бактериями *B. licheniformis* RC02, *Rhodobacter capsulatus* RC04, *P. polymyxa* RC05, *P. putida* RC06 и *Bacillus* OSU-142. Исследования показали, что основным механизмом действия данных микроорганизмов является стимулирование роста за счет выработки фитогормонов [120].

Обработка пшеницы штаммом *B. altitudinis* WR10 способствовала увеличению среднего числа зерен в колосе, а также содержанию общего N, K и Fe в зернах [121]. Обработка пшеницы штаммом *Exiguobacterium aurantiacum* увеличила содержание Zn и Fe в шесть раз по сравнению с контролем. Также у обработанных растений наблюдалось более высокое содержание N, P и K [122].

Микроорганизмы и повышение продуктивности сельскохозяйственных культур. Применение микроорганизмов в сельском хозяйстве не ограничивается биофортификацией. Микроорганизмы обладают множественными механизмами улучшения роста и продуктивности сельскохозяйственных культур. При прямом стимулировании роста растений бактерии снабжают его основными фитогормонами, включая ауксины, цитокинины и гиббереллины [132]. Многочисленные ростостимулирующие микроорганизмы с различной физиологией и морфологией способны продуцировать ауксины, а именно идолил-3-уксусную кислоту [133–135]. В качестве наиболее известных продуцентов идолил-3-уксусной кислоты выделяют представителей следующих родов: *Pseudomonas*, *Rhizobium*, *Aeromonas*, *Azospirillum*, *Enterobacter*, *Azotobacter*, *Klebsiella*, *Alcaligenes*, *Pantoea*, *Acetobacter*, *Herbaspirillum*, *Burkholderia*, *Bacillus*, *Rhodococcus* и *Streptomyces* [136, 137].

Обычно растения очень чувствительны к количеству индолилуксусной кислоты в тканях. Воздействие данного фитогормона на растение заключается в инициировании деления и элонгации клеток, формировании корневой системы, листьев и цветов, а также развитии и старении [138]. Индолилуксусная кислота также участвует в таких процессах, как фотосинтез, биосинтез метаболитов и формирование стрессоустойчивости [139].

Микробный синтез других фитогормонов мало изучен [140]. Полный путь биосинтеза бактериального гиббереллина описан недавно [141]. В связи с этим поиск микроорганизмов-продуцентов данного фитогормона

актуален для сельского хозяйства. Сегодня идентифицировано около 136 гиббереллиновых кислот, которые можно получить микробным синтезом [140–143]. Эти соединения стимулируют ряд метаболических функций растений, включая прорастание семян, удлинение стебля, цветение и образование плодов.

Еще одной группой фитогормонов, продуцируемых микроорганизмами, являются цитокинины. Они присутствуют в культуральном фильтрате ряда бактерий, включая *Azotobacter* sp., *Rhizobium* sp., *Pantoea agglomerans*, *Rhodospirillum rubrum*, *P. fluorescens*, *Bacillus subtilis* и *P. polymyxa* [134]. Несмотря на то что данные микроорганизмы признаны эндофитами и способны стимулировать рост растений, выработку бактериальных цитокининов долгое время не считали ростостимулирующим механизмом из-за малого числа исследований. Все больше исследователей сообщают о способности микробных цитокининов оказывать стимулирующее действие на рост растений. В исследовании B. R. Glick описано выделение, идентификация и характеристика бактериальных эндофитов, продуцирующих цитокининоподобные молекулы [133]. Этилацетатный экстракт культуральных сред микроорганизмов использовали для инокуляции семядолей огурца. Анализ показал, что *Pseudomonas resinovorans* и *P. polymyxa* обладают ростостимулирующими свойствами. Наблюдаемый положительный эффект связан с бактериальными цитокининами [144].

Механизмом положительного влияния микроорганизмов на растения является антагонизм в отношении фитопатогенов [145]. Различные микроорганизмы производят антибиотики, ферменты и другие метаболиты, которые помогают контролировать патогены растений. Широкий спектр микроорганизмов действует как агент биоконтроля (табл. 4) [146].

S. Saechow и др. отметили высокий ингибирующий потенциал *Bacillus amyloliquefaciens* в отношении ряда грибковых патогенов риса, включая *Curvularia lunata*, *Fusarium semitectum* и *Helminthosporium oryzae* [155]. Несколько видов ростостимулирующих микроорганизмов, таких как *Bacillus simplex*, *B. subtilis*, *B. amyloliquefaciens*, *B. licheniformis*, *Bacillus velezensis* и т. д., продуцируют противогрибковые соединения и конкурируют с грибковыми патогенами за пространство и пищу [156]. Высокая антагонистическая активность рода *Streptomyces* в отношении *Curvularia* sp., *Helminthosporium* sp., *A. niger* и *Fusarium* sp. описана в современной научной литературе [157]. Род бактерий *Bacillus* продуцирует ряд вторичных метаболитов, проявляющих антагонистические свойства. К ним относят бактериоцины, антимикробные пептиды и липопептиды, поликетиды и сидерофоры [158]. Например, *B. amyloliquefaciens* FZB42 представляет собой коммерчески доступный бактериальный штамм, способный продуцировать бацилломицин D. Это вещество подавляет развитие грибка *Fusarium graminearum*, поражающего пшеницу и ячмень [159]. L. Zhang и C. Sun описали фенгицин BS155 – циклический липопептид, продуцируемый *B. subtilis* BS155 [160]. Это вещество изменяет морфологию плазматической мембраны гиф и клеточных стенок, вызывая дисфункцию органелл, нарушение потенциала митохондриальной мембраны, окислительный стресс и конденсацию хроматина, что приводит к гибели клеток *Magnaporthe grisea* – фитопатогена, вызывающего болезнь риса.

Конкуренция между микробными сообществами за пространство и питательные вещества также активно применяется в биологическом контроле фитопатогенов. S. Sarrocco и др. отметили, что эндофитная колонизация корней пшеницы *Trichoderma gamsii* T6085 снижает вероятность заражения растения *F. graminearum* и *Fusarium oxysporum* 7121 [161]. Данный микроорганизм является естественным конкурентом рода *Fusarium*. A. di Francesco и E. Baraldi сообщили, что штаммы

Таблица 4. Микроорганизмы, продуцирующие антимикробные метаболиты

Table 4. Microbial production of antimicrobial metabolites

Наименование микроорганизма	Механизм биоконтроля	Целевой патоген	Источник
Bacillus velezensis	Синтез внеклеточных ферментов, ингибирует рост мицелия и прорастание спор	*Coniella vitis*	[147]
Bacillus amyloliquefaciens	Синтез липопептиов, проявляющих противогрибковую активность	*Rhizoctonia solani*	[148]
Pseudomonas chlororaphis R47	Ингибирование прорастания спор и синтеза HCN грибковыми патогенами	*Phytophthora infestans*	[149]
Leclercia adecarboxylata	Синтез сидерофоров и N-ацетил-*β*-глюкозаминидаза	*Fusarium solani*	[150]
Bacillus cereus B25	Продуцирование хитиназы A и B, гликозидгидролазы, петробактина и бациллибактина, сурфактина	*Fusarium verticillioides*	[151]
Gnetum gnemon L.	Синтез антимикробных пептидов	*Ralstonia solanacearum*	[152]
Bacillus subtilis	Синтез *β*-глюканазы	*Fusarium oxysporum*	[153]
Bacillus subtilis	Синтез сурфактина	*Medicago sativa*	[154]

Aureobasidium pullulans конкурируют с грибковым патогеном *Monilinia laxa* за железо путем продуцирования сидерофоров [162]. Это позволяет снизить распространение патогена на территориях с низкой концентрацией железа.

Еще одним механизмом, активно используемым для борьбы с фитопатогенами, является индуцирование устойчивой системной резистентности растений. Это достигается с помощью нескольких механизмов, включая увеличение синтеза фитоалексинов и белков, связанных с патогенезом, усиление синтеза лигнина и глюканов, которые утолщают стенки растительных клеток, что усложняет проникновение патогенов [163, 164]. Микроорганизмы, участвующие в формировании индуцированной системной резистентности, представлены в таблице 5.

Микроорганизмы способны активировать гены защиты растений, не вызывая каких-либо изменений в геноме. Например, эндофитная бактерия *Burkholderia gladioli* увеличивала содержание эндогенной жасмоновой кислоты и повышала экспрессию сигнального пути жасминовой кислоты для индуцирования системной устойчивости растения-хозяина, что способствовало защите от *F. oxysporum* [171].

Проблемы, ограничивающие применение биофортификации. Микробная биофортификация представляет собой эффективный инструмент в обогащении сельскохозяйственных культур биогенными элементами. Существует ряд сложностей, которые не позволяют использовать данный метод повсеместно. Причиной низкой эффективности микроорганизмов могут быть особенности почв. Для поглощения нескольких элементов растение может использовать одну и ту же транспортную систему. Например, почвенная сера ингибирует процесс поглощения селена, поскольку метаболический путь этих элементов в растении совпадает [172].

Для оптимизации стратегии биофортификации необходимо учитывать послеуборочную обработку каждой культуры. Например, зерна большинства злаковых обычно потребляются после процесса полировки или помола. В процессе этих технологических операций зерно теряет большое количество биогенных элементов. Несмотря на то что некоторые минеральные элементы, такие как сера и селен, присутствуют в высоких концентрациях внутри зерна, наибольшая концентрация питательных и биоактивных веществ содержится в отрубях [173]. В связи с этим для биофортифицированных культур рационален подбор обработки, которая позволяет сохранить биологическую ценность продукта. Также рационален поиск стратегий, позволяющих увеличить концентрации биогенных соединений в определенной части растения, чтобы избежать их потери в процессе обработки.

Еще одной сложностью, препятствующей внедрению методов биофортификации в сельскохозяйственную практику, является недоверие потребителей. Введение некоторых питательных веществ может изменять внешний вид продукта. Культуры, обогащенные каротиноидами, обладают оранжевой мякотью, что является отталкивающим для многих потребителей. Мотивировать население на покупку продуктов с нестандартным внешним видом является непростой задачей. Кроме того, повышение концентрации биогенных элементов в продукте может привести к изменению его вкусовых качеств. Следовательно, для повсеместного внедрения методов биофортификации необходимо повышать осведомленность населения о пользе биообогащенных культур [174].

Несмотря на описанные сложности, метод микробной биофортификации остается рациональным решением проблемы производства высококачественного урожая, богатого биогенными веществами. Экологическая безопасность и экономическая эффективность являются основными преимуществами, обуславливающими распространение ростостимулирующих микроорганизмов в сельском хозяйстве. В последние годы наблюдается устойчивое увеличение сегмента микробных препаратов на мировом рынке, в том числе за счет активизации научных исследований в данной сфере.

Таблица 5. Примеры микроорганизмов, индуцирующих системную резистентность растений

Table 5. Microorganisms that induce systemic resistance in plants

Наименование микроорганизма	Механизм биоконтроля	Целевой патоген	Источник
Bacillus amyloliquefaciens	ABA/SA (FZB42-индуцированное закрытие устьиц), активация генов, связанных с защитой PR-la, LOX, ERF1	*Phytophthora nicotianae*, *Rhizoctonia solani*	[165, 166]
Bacillus cereus	Подавление miR825 и miR825, нацеленное на активацию генов, связанных с естественной защитой растения	*Pseudomonas syringae* pv. *tomato*	[167]
Pseudomonas fluorescens	Активация защитных путей салициловой, жасминовой и абсцизовой кислот	*Plasmopara viticola*, *Botrytis cinerea*	[168]
Streptomyces pactum	Повышение стрессоустойчивости растения за счет синтеза фенилаланин-аммиаклиазы, активация защитных генов *PR-1*, *PR2*, *PR-5*	Вирус желтой пятнистости	[169]
Paenibacillus alvei	Активация защитных генов *PR-1*, *PR2*, *PR-5*	*Verticillium dahliae*	[170]

Актуальность в изучении потенциала микроорганизмов в сфере биофортификации представляют современные методы омиксных технологий. Например, генетика помогает выявить изменения в экспрессии генов во время микробных взаимодействий, что имеет значение для понимания роли микроорганизмов в биофортификации. Все большее внимание уделяется следующим исследовательским вопросам: влиянию микроорганизмов на содержание питательных веществ в экономически важных сельскохозяйственных культурах; идентификации новых перспективных микробных штаммов; использованию синергетической микробной активности, например, между арбускулярной микоризой и другими полезными бактериями; оценке полевой эффективности штаммов в различных экологических режимах для обеспечения адекватного поглощения растениями питательных веществ и улучшения качества урожая.

Выводы

В течение долгого времени методы селекции и агрономии оставались основным направлением биообогащения сельскохозяйственных культур. Они до сих пор играют важную роль в биофортификации, но их применение ограничено высокой трудоемкостью, временными затратами и рядом экологических проблем. Ростостимулирующие микроорганизмы, присутствующие в почве и ризосфере, играют важную роль в геобиохимическом круговороте почвенных минералов и доставке питательных веществ растениям. Они способны изменять экспрессию определенных генов, связанных с поглощением и транспортировкой в растениях необходимых микроэлементов, таких как цинк, железо, селен и т. д. Применение биофортификации на основе ростостимулирующих микроорганизмов может быть экологически обоснованным, надежным и экономичным подходом в сравнении с другими традиционными методами для обеспечения продовольственной безопасности и ликвидации скрытого голода.

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.

References/Список литературы

1. Smith MR, Myers SS. Impact of anthropogenic CO_2 emissions on global human nutrition. Nature Climate Change. 2018;8:834–839. https://doi.org/10.1038/s41558-018-0253-3

2. Harding KL, Aguayo VM, Webb P. Hidden hunger in South Asia: A review of recent trends and persistent challenges. Public Health Nutrition. 2018;21(4):785–795. https://doi.org/10.1017/S1368980017003202

3. Lowe NM. The global challenge of hidden hunger: Perspectives from the field. Proceedings of the Nutrition Society. 2021;80(3):283–289. https://doi.org/10.1017/S0029665121000902

4. Debnath S, Mandal B, Saha S, Sarkar D, Batabyal K, Murmu S, *et al.* Are the modern-bred rice and wheat cultivars in India inefficient in zinc and iron sequestration? Environmental and Experimental Botany. 2021;189:104535. https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2021.104535

5. Davis DR. Declining fruit and vegetable nutrient composition: What is the evidence? HortScience. 2009;44(1):15–19. https://doi.org/10.21273/HORTSCI.44.1.15

6. Murphy KM, Reeves PG, Jones SS. Relationship between yield and mineral nutrient concentrations in historical and modern spring wheat cultivars. Euphytica. 2008;163:381–390. https://doi.org/10.1007/s10681-008-9681-x

7. Kumar A, Choudhary AK, Pooniya V, Suri VK, Singh U. Soil factors associated with micronutrient acquisition in crops- biofortification perspective. In: Singh U, Praharaj CS, Singh SS, Singh NP, editors. Biofortification of food crops. New Delhi: Springer; 2016. pp. 159–176. https://doi.org/10.1007/978-81-322-2716-8_13

8. Bouis HE, Welch RM. Biofortification – A sustainable agricultural strategy for reducing micronutrient malnutrition in the global south. Crop Science. 2010;50(S1):S-20–S-32. https://doi.org/10.2135/cropsci2009.09.0531

9. Hefferon KL. Can biofortified crops help attain food security? Current Molecular Biology Reports. 2016;2:180–185. https://doi.org/10.1007/s40610-016-0048-0

10. Garg M, Sharma N, Sharma S, Kapoor P, Kumar A, Chunduri V, *et al.* Biofortified crops generated by breeding, agronomy, and transgenic approaches are improving lives of millions of people around the world. Frontiers in Nutrition. 2018;5:12. https://doi.org/10.3389/fnut.2018.00012

11. Ye X, Al-Babili S, Klöti A, Zhang J, Lucca P, Beyer P, *et al.* Engineering the provitamin A (β-carotene) biosynthetic pathway into (carotenoid-free) rice endosperm. Science. 2000;287(5451):303–305. https://doi.org/10.1126/science.287.5451.303

12. Amanullah, Saleem A, Iqbal A, Fahad S. Foliar phosphorus and zinc application improve growth and productivity of maize (*Zea mays* L.) under moisture stress conditions in semi-arid climates. Journal of Microbial and Biochemical Technology. 2016;8(5):433–439. https://doi.org/10.4172/1948-5948.1000321

13. Steckling SM, Ribeiro ND, Arns FD, Mezzomo HC, Possobom MTDF. Genetic diversity and selection of common bean lines based on technological quality and biofortification. Genetics and Molecular Research. 2017;16(1). https://doi.org/10.4238/gmr16019527

14. Andersson MS, Saltzman A, Virk PS, Pfeiffer WH. Progress update: Crop development of biofortified staple food crops under HarvestPlus. African Journal of Food, Agriculture, Nutrition and Development. 2017;17(02):11905–11935. https://doi.org/10.18697/ajfand.78.HarvestPlus05

15. Velu G, Singh R, Balasubramaniam A, Mishra VK, Chand R, Tiwari C, *et al.* Reaching out to farmers with high zinc wheat varieties through public-private partnerships – An experience from Eastern-Gangetic plains of India. Advances in Food Technology and Nutritional Sciences. 2015;1(3):73–75. https://doi.org/10.17140/AFTNSOJ-1-112

16. Sendhil R, Cariappa AGA, Ramasundaram P, Gupta V, Gopalareddy K, Gupta OP, *et al.* Biofortification in wheat: Research progress, potential impact, and policy imperatives. SSRN Journal. 2022. https://doi.org/10.2139/ssrn.4087960

17. Virk PS, Andersson MS, Arcos J, Govindaraj M, Pfeiffer WH. Transition from targeted breeding to mainstreaming of biofortification traits in crop improvement programs. Frontiers in Plant Science. 2021;12:703990. https://doi.org/10.3389/fpls.2021.703990

18. Vinoth A, Ravindhran R. Biofortification in millets: A sustainable approach for nutritional security. Frontiers in Plant Science. 2017;8:29. https://doi.org/10.3389/fpls.2017.00029

19. Cakmak I, Kutman UB. Agronomic biofortification of cereals with zinc: A review. European Journal of Soil Science. 2018;69(1):172–180. https://doi.org/10.1111/ejss.12437

20. Bhardwaj AK, Chejara S, Malik K, Kumar R, Kumar A, Yadav RK. Agronomic biofortification of food crops: An emerging opportunity for global food and nutritional security. Frontiers in Plant Science. 2022;13:1055278. https://doi.org/10.3389/fpls.2022.1055278

21. Patle PN, Kadu PR, Gabhane AR, Pharande AL, Bhagat AP, Bhoyar SM, *et al.* Consequences provoked due to excess application of agrochemical on soil health deterioration – A review for Sustainable Agriculture. Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry. 2019;8(2S):63–66.

22. Abou Hussien EA, Abou-Baker NH, Abou Al Fotoh MSM, Kotb EKM. Change of some soil physical properties in newly re-claimed soils following poor soil management: A case study in Al-Qasasin, Egypt. Asian Journal of Soil Science and Plant Nutrition. 2022;8(3):41–53. https://doi.org/10.9734/ajsspn/2022/v8i3161

23. Singh B. Are nitrogen fertilizers deleterious to soil health? Agronomy. 2018;8(4):48. https://doi.org/10.3390/agronomy8040048

24. Beltran-Garcia MJ, Martínez-Rodríguez A, Olmos-Arriaga I, Valdes-Salas B, Di Mascio P, White JF. Nitrogen fertilization and stress factors drive shifts in microbial diversity in soils and plants. Symbiosis. 2021;84:379–390. https://doi.org/10.1007/s13199-021-00787-z

25. Shen J, Yuan L, Zhang J, Li H, Bai Z, Chen X, *et al.* Phosphorus dynamics: From soil to plant. Plant Physiology. 2011;156(3):997–1005. https://doi.org/10.1104/pp.111.175232

26. Walpola BC, Yoon M-H. Prospectus of phosphate solubilizing microorganisms and phosphorus availability in agricultural soils: A review. African Journal of Microbiology Research. 2012;6(37):6600–6605. https://doi.org/10.5897/AJMR12.889

27. Etesami H. Enhanced phosphorus fertilizer use efficiency with microorganisms. In: Meena RS, editor. Nutrient dynamics for sustainable crop production. Singapore: Springer; 2020. pp. 215–245. https://doi.org/10.1007/978-981-13-8660-2_8

28. Mariano E, Leite JM, Megda MXV, Torres-Dorante L, Trivelin PCO. Influence of nitrogen form supply on soil mineral nitrogen dynamics, nitrogen uptake, and productivity of sugarcane. Agronomy Journal. 2015;107(2):641–650. https://doi.org/10.2134/agronj14.0422

29. Hardoim PR, Andreote FD, Reinhold-Hurek B, Sessitsch A, van Overbeek LS, van Elsas JD. Rice root-associated bacteria: Insights into community structures across 10 cultivars. FEMS Microbiology Ecology. 2011;77(1):154–164. https://doi.org/10.1111/j.1574-6941.2011.01092.x

30. van der Heijden MGA, Bardgett RD, van Straalen NM. The unseen majority: Soil microbes as drivers of plant diversity and productivity in terrestrial ecosystems. Ecology Letters. 2008;11(3):296–310. https://doi.org/10.1111/j.1461-0248.2007.01139.x

31. Rana A, Saharan B, Nain L, Prasanna R, Shivay YS. Enhancing micronutrient uptake and yield of wheat through bacterial PGPR consortia. Soil Science and Plant Nutrition. 2012;58(5):573–582. https://doi.org/10.1080/00380768.2012.716750

32. Ilyas M, Nisar M, Khan N, Hazrat A, Khan AH, Hayat K, *et al.* Drought tolerance strategies in plants: A mechanistic approach. Journal of Plant Growth Regulation. 2021;40:926–944. https://doi.org/10.1007/s00344-020-10174-5

33. Morgenstern E, Okon Y. The effect of *Azospirillum brasilense* and auxin on root morphology in seedlings of *Sorghum bicolor* × *Sorghum sudanense*. Arid Soil Research and Rehabilitation. 1987;1(2):115–127. https://doi.org/10.1080/15324988709381135

34. Lakshmanan V, Selvaraj G, Bais HP. Functional soil microbiome: Belowground solutions to an aboveground problem. Plant Physiology. 2014;166(2):689–700. https://doi.org/10.1104/pp.114.245811

35. Finkel OM, Castrillo G, Herrera Paredes S, Salas González I, Dangl JL. Understanding and exploiting plant beneficial microbes. Current Opinion in Plant Biology. 2017;38:155–63. https://doi.org/10.1016/j.pbi.2017.04.018

36. Kumar A, Dubey A. Rhizosphere microbiome: Engineering bacterial competitiveness for enhancing crop production. Journal of Advanced Research. 2020;24:337–352. https://doi.org/10.1016/j.jare.2020.04.014

37. Tarkka MT, Drigo B, Deveau A. Mycorrhizal microbiomes. Mycorrhiza. 2018;28:403–409. https://doi.org/10.1007/s00572-018-0865-5

38. Serazetdinova YuR, Fotina NV, Asyakina LK, Prosekov AYu, Neverova OA. The role of Bacillus amyloliquefaciens in reducing the abiotic stress of cereals. XXI Century: Resumes of the Past and Challenges of the Present Plus. 2023;12(4):178–183. (In Russ.). https://elibrary.ru/LBKHMF

39. Ramírez-Puebla ST, Hernández MAR, Guerrero Ruiz G, Ormeño-Orrillo E, Martinez-Romero JC, Servín-Garcidueñas LE, *et al.* Nodule bacteria from the cultured legume *Phaseolus dumosus* (belonging to the *Phaseolus vulgaris* cross-inoculation group) with common tropici phenotypic characteristics and symbiovar but distinctive phylogenomic position and chromid. Systematic and Applied Microbiology. 2019;42(3):373–382. https://doi.org/10.1016/j.syapm.2018.12.007

40. Oldroyd GED, Leyser O. A plant's diet, surviving in a variable nutrient environment. Science. 2020;368(6486):eaba0196. https://doi.org/10.1126/science.aba0196

41. Kuypers MMM, Marchant HK, Kartal B. The microbial nitrogen-cycling network. Nature Reviews Microbiology. 2018;16:263–276. https://doi.org/10.1038/nrmicro.2018.9

42. Stokstad E. The nitrogen fix. Science. 2016;353(6305):1225–1227. https://doi.org/10.1126/science.353.6305.1225

43. King CA, Purcell LC. Inhibition of N_2 fixation in soybean is associated with elevated ureides and amino acids. Plant Physiology. 2005;137(4):1389–1396. https://doi.org/10.1104/pp.104.056317

44. Liu Y, Wu L, Baddeley JA, Watson CA. Models of biological nitrogen fixation of legumes. In: Lichtfouse E, Hamelin M, Navarrete M, Debaeke P, editors. Sustainable agriculture. Volume 2. Dordrecht: Springer; 2011. pp. 883–905. https://doi.org/10.1007/978-94-007-0394-0_39

45. Graham PH, Vance CP. Legumes: Importance and constraints to greater use. Plant Physiology. 2003;131(3):872–877. https://doi.org/10.1104/pp.017004

46. Bishop PE, Joerger RD. Genetics and molecular biology of alternative nitrogen fixation systems. Annual Review of Plant Biology. 1990;41:109–125. https://doi.org/10.1146/annurev.pp.41.060190.000545

47. Burén S, Rubio LM. State of the art in eukaryotic nitrogenase engineering. FEMS Microbiology Letters. 2018;365(2):fnx274. https://doi.org/10.1093/femsle/fnx274

48. dos Santos PC, Fang Z, Mason SW, Setubal JC, Dixon R. Distribution of nitrogen fixation and nitrogenase-like sequences amongst microbial genomes. BMC Genomics. 2012;13:162. https://doi.org/10.1186/1471-2164-13-162

49. McGlynn SE, Boyd ES, Peters JW, Orphan VJ. Classifying the metal dependence of uncharacterized nitrogenases. Frontiers in Microbiology. 2013;3:419. https://doi.org/10.3389/fmicb.2012.00419

50. Spaink HP. Root nodulation and infection factors produced by rhizobial bacteria. Annual Review of Microbiology. 2000;54:257–288. https://doi.org/10.1146/annurev.micro.54.1.257

51. Dénarié J, Debellé F, Promé J-C. Rhizobium lipo-chitooligosaccharide nodulation factors: Signaling molecules mediating recognition and morphogenesis. Annual Review of Microbiology. 1996;65:503–535. https://doi.org/10.1146/annurev.bi.65.070196.002443

52. Szczyglowski K, Shaw RS, Wopereis J, Copeland S, Hamburger D, Kasiborski B, *et al.* Nodule organogenesis and symbiotic mutants of the model legume *Lotus japonicus*. Molecular Plant-Microbe Interactions. 1998;11(7):684–697. https://doi.org/10.1094/MPMI.1998.11.7.684

53. Timmers ACJ, Auriac M-C, Truchet G. Refined analysis of early symbiotic steps of the *Rhizobium-Medicago* interaction in relationship with microtubular cytoskeleton rearrangements. Development. 1999;126(16):3617–3628. https://doi.org/10.1242/dev.126.16.3617

54. Oldroyd GED, Murray JD, Poole PS, Downie JA. The rules of engagement in the legume-rhizobial symbiosis. Annual Review of Genetics. 2011;45:119–144. https://doi.org/10.1146/annurev-genet-110410-132549

55. Oldroyd GED. Speak, friend, and enter: Signalling systems that promote beneficial symbiotic associations in plants. Nature Reviews Microbiology. 2013;11:252–263. https://doi.org/10.1038/nrmicro2990

56. Reid CPP, Crowley DE, Kim HJ, Powell PE, Szaniszlo PJ. Utilization of iron by oat when supplied as ferrated synthetic chelate or as ferrated hydroxamate siderophore. Journal of Plant Nutrition. 1984;7(1–5):437–447. https://doi.org/10.1080/01904168409363210

57. Ahmed E, Holmström SJM. Siderophores in environmental research: Roles and applications. Microbial Biotechnology. 2014;7(3):196–208. https://doi.org/10.1111/1751-7915.12117

58. Desai A, Archana G. Role of siderophores in crop improvement. In: Maheshwari DK, editor. Bacteria in agrobiology: Plant nutrient management. Heidelberg: Springer Berlin; 2011. pp. 109–139. https://doi.org/10.1007/978-3-642-21061-7_6

59. Alaylar B, Egamberdieva D, Gulluce M, Karadayi M, Arora NK. Integration of molecular tools in microbial phosphate solubilization research in agriculture perspective. World Journal of Microbiology and Biotechnology. 2020;36:93. https://doi.org/10.1007/s11274-020-02870-x

60. Boiteau RM, Mende DR, Hawco NJ, McIlvin MR, Fitzsimmons JN, Saito MA, *et al.* Siderophore-based microbial adaptations to iron scarcity across the eastern Pacific Ocean. Proceedings of the National Academy of Sciences. 2016; 113(50):14237–14242. https://doi.org/10.1073/pnas.1608594113

61. Sullivan JT, Jeffery EF, Shannon JD, Ramakrishnan G. Characterization of the siderophore of *Francisella tularensis* and role of *fslA* in siderophore production. Journal of Bacteriology. 2006;188(11):3785–3795. https://doi.org/10.1128/JB.00027-06

62. Mumtaz MZ, Ahmad M, Jamil M, Hussain T. Zinc solubilizing *Bacillus* spp. potential candidates for biofortification in maize. Microbiological Research. 2017;202:51–60. https://doi.org/10.1016/j.micres.2017.06.001

63. Gopalakrishnan S, Vadlamudi S, Samineni S, Sameer Kumar CV. Plant growth-promotion and biofortification of chickpea and pigeonpea through inoculation of biocontrol potential bacteria, isolated from organic soils. SpringerPlus. 2016;5:1882. https://doi.org/10.1186/s40064-016-3590-6

64. Ramesh A, Sharma SK, Sharma MP, Yadav N, Joshi OP. Plant growth-promoting traits in *Enterobacter cloacae* subsp. *dissolvens* MDSR9 isolated from soybean rhizosphere and its impact on growth and nutrition of soybean and wheat upon inoculation. Agricultural Research. 2014;3:53–66. https://doi.org/10.1007/s40003-014-0100-3

65. Pellegrino E, Bedini S. Enhancing ecosystem services in sustainable agriculture: Biofertilization and biofortification of chickpea (*Cicer arietinum* L.) by arbuscular mycorrhizal fungi. Soil Biology and Biochemistry. 2014;68:429–439. https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2013.09.030

66. Whiting SN, de Souza MP, Terry N. Rhizosphere bacteria mobilize Zn for hyperaccumulation by *Thlaspicaerulescens*. Environmental Science and Technology. 2001;35(15):3144–3150. https://doi.org/10.1021/es001938v

67. Mastropasqua MC, D'Orazio M, Cerasi M, Pacello F, Gismondi A, Canini A, *et al.* Growth of *Pseudomonas aeruginosa* in zinc poor environments is promoted by a nicotianamine-related metallophore. Molecular Microbiology. 2017;106(4):543–561. https://doi.org/10.1111/mmi.13834

68. Lhospice S, Gomez NO, Ouerdane L, Brutesco C, Ghssein G, Hajjar C, *et al. Pseudomonas aeruginosa* zinc uptake in chelating environment is primarily mediated by the metallophore pseudopaline. Scientific Reports. 2017;7:17132. https://doi.org/10.1038/s41598-017-16765-9

69. Goteti PK, Emmanuel LDA, Desai S, Shaik MHA. Prospective zinc solubilising bacteria for enhanced nutrient uptake and growth promotion in maize (*Zea mays* L.). International Journal of Microbiology. 2013;2013:869697. https://doi.org/10.1155/2013/869697

70. Saravanan VS, Kalaiarasan P, Madhaiyan M, Thangaraju M. Solubilization of insoluble zinc compounds by *Gluconacetobacter diazotrophicus* and the detrimental action of zinc ion (Zn^{2+}) and zinc chelates on root knot nematode *Meloidogyne incognita*. Letters in Applied Microbiology. 2007;44(3):235–241. https://doi.org/10.1111/j.1472-765X.2006.02079.x

71. Saravanan VS, Madhaiyan M, Thangaraju M. Solubilization of zinc compounds by the diazotrophic, plant growth promoting bacterium *Gluconacetobacter diazotrophicus*. Chemosphere. 2007;66(9):1794–1798. https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2006.07.067

72. Sunithakumari K, Padma Devi SN, Vasandha S. Zinc solubilizing bacterial isolates from the agricultural fields of coimbatore, Tamil Nadu, India. Current Science. 2016;110(2):196. https://doi.org/10.18520/cs/v110/i2/196-205

73. Li WC, Ye ZH, Wong MH. Metal mobilization and production of short-chain organic acids by rhizosphere bacteria associated with a Cd/Zn hyperaccumulating plant, *Sedum alfredii*. Plant and Soil. 2010;326:453–467. https://doi.org/10.1007/s11104-009-0025-y

74. Sah S, Singh N, Singh R. Iron acquisition in maize (*Zea mays* L.) using *Pseudomonas* siderophore. 3 Biotech. 2017;7:121. https://doi.org/10.1007/s13205-017-0772-z

75. Kushwaha P, Srivastava R, Pandiyan K, Singh A, Chakdar H, Kashyap PL, *et al.* Enhancement in plant growth and zinc biofortification of chickpea (*Cicer arietinum* L.) by *Bacillus altitudinis*. Journal of Soil Science and Plant Nutrition. 2021;21:922–935. https://doi.org/10.1007/s42729-021-00411-5

76. Dinesh R, Srinivasan V, Hamza S, Sarathambal C, Anke Gowda SJ, Ganeshamurthy AN, *et al.* Isolation and characterization of potential Zn solubilizing bacteria from soil and its effects on soil Zn release rates, soil available Zn and plant Zn content. Geoderma. 2018;321:173–186. https://doi.org/10.1016/j.geoderma.2018.02.013

77. Fasim F, Ahmed N, Parsons R, Gadd GM. Solubilization of zinc salts by a bacterium isolated from the air environment of a tannery. FEMS Microbiology Letters. 2002;213(1):1–6. https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.2002.tb11277.x

78. Vaid SK, Kumar B, Sharma A, Shukla AK, Srivastava PC. Effect of Zn solubilizing bacteria on growth promotion and Zn nutrition of rice. Journal of Soil Science and Plant Nutrition. 2014;14(4):889–910. https://doi.org/10.4067/S0718-95162014005000071

79. Costerousse B, Schönholzer-Mauclaire L, Frossard E, Thonar C. Identification of heterotrophic zinc mobilization processes among bacterial strains isolated from wheat rhizosphere (*Triticum aestivum* L.). Applied and Environmental Microbiology. 2018;84(1):e01715-17. https://doi.org/10.1128/AEM.01715-17

80. Costa LEDO, Corrêa TLR, Teixeira JA, Araújo EFD, Queiroz MV. Endophytic bacteria isolated from *Phaseolus vulgaris* produce phytases with potential for biotechnology application. Brazilian Journal of Biological Sciences. 2018;5(11):657–671. https://doi.org/10.21472/bjbs.051105

81. Abbaszadeh-Dahaji P, Masalehi F, Akhgar A. Improved growth and nutrition of sorghum (*Sorghum bicolor*) plants in a low-fertility calcareous soil treated with plant growth–promoting rhizobacteria and Fe-EDTA. Journal of Soil Science and Plant Nutrition. 2020;20:31–42. https://doi.org/10.1007/s42729-019-00098-9

82. Shrivastava M, Srivastava PC, D'Souza SF. Phosphate-solubilizing microbes: Diversity and phosphates solubilization mechanism. In: Meena VS, editor. Role of rhizospheric microbes in soil. Singapore: Springer; 2018. pp. 137–165. https://doi.org/10.1007/978-981-13-0044-8_5

83. Florentino AP, Weijma J, Stams AJM, Sánchez-Andrea I. Ecophysiology and application of acidophilic sulfur-reducing microorganisms. In: Rampelotto PH, editor. Biotechnology of extremophiles. Cham: Springer; 2016. pp. 141–175. https://doi.org/10.1007/978-3-319-13521-2_5

84. Roy S, Roy M. Characterization of plant growth promoting feature of a neutromesophilic, facultatively chemolithoautotrophic, sulphur oxidizing *bacterium Delftia* sp. strain SR4 isolated from coal mine spoil. International Journal of Phytoremediation. 2019;21(6):531–540. https://doi.org/10.1080/15226514.2018.1537238

85. Parks EJ, Olson GJ, Brinckman FE, Baldi F. Characterization by high performance liquid chromatography (HPLC) of the solubilization of phosphorus in iron ore by a fungus. Journal of Industrial Microbiology. 1990;5(2–3):183–189. https://doi.org/10.1007/BF01573868

86. Illmer P, Schinner F. Solubilization of inorganic calcium phosphates – Solubilization mechanisms. Soil Biology and Biochemistry. 1995;27(3):257–263. https://doi.org/10.1016/0038-0717(94)00190-C

87. Gaind S. Phosphate dissolving fungi: Mechanism and application in alleviation of salt stress in wheat. Microbiological Research. 2016;193:94–102. https://doi.org/10.1016/j.micres.2016.09.005

88. Sharan A, Shikha, Darmwal NS. Efficient phosphorus solubilization by mutant strain of *Xanthomonas campestris* using different carbon, nitrogen and phosphorus sources. World Journal of Microbiology and Biotechnology. 2008;24:3087–3090. https://doi.org/10.1007/s11274-008-9807-2

89. Park K-H, Lee C-Y, Son H-J. Mechanism of insoluble phosphate solubilization by *Pseudomonas fluorescens* RAF15 isolated from ginseng rhizosphere and its plant growth-promoting activities. Letters in Applied Microbiology. 2009;49(2):222–228. https://doi.org/10.1111/j.1472-765X.2009.02642.x

90. Jarosch KA, Doolette AL, Smernik RJ, Tamburini F, Frossard E, Bünemann EK. Characterisation of soil organic phosphorus in NaOH-EDTA extracts: A comparison of ^{31}P NMR spectroscopy and enzyme addition assays. Soil Biology and Biochemistry. 2015;91:298–309. https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2015.09.010

91. Singh P, Banik RM. Effect of purified alkaline phosphatase from *Bacillus licheniformis* on growth of *Zea mays* L. Plant Science Today. 2019;6(sp1):583–589. https://doi.org/10.14719/pst.2019.6.sp1.676

92. Della Mónica IF, Godeas AM, Scervino JM. In vivo modulation of arbuscular mycorrhizal symbiosis and soil quality by fungal P solubilizers. Microbial Ecology. 2020;79:21–29. https://doi.org/10.1007/s00248-019-01396-6

93. Richardson AE. Prospects for using soil microorganisms to improve the acquisition of phosphorus by plants. Functional Plant Biology. 2001;28(9):897–906. https://doi.org/10.1071/PP01093

94. Xia X, Wu S, Li N, Wang D, Zheng S, Wang G. Novel bacterial selenite reductase CsrF responsible for Se(IV) and Cr(VI) reduction that produces nanoparticles in *Alishewanella* sp. WH16-1. Journal of Hazardous Materials. 2018;342:499–509. https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2017.08.051

95. Avendaño R, Chaves N, Fuentes P, Sánchez E, Jiménez JI, Chavarría M. Production of selenium nanoparticles in *Pseudomonas putida* KT2440. Scientific Reports. 2016;6:37155. https://doi.org/10.1038/srep37155

96. Trivedi G, Patel P, Saraf M. Synergistic effect of endophytic selenobacteria on biofortification and growth of *Glycine max* under drought stress. South African Journal of Botany. 2020;134:27–35. https://doi.org/10.1016/j.sajb.2019.10.001

97. Hrynkiewicz K, Ciesielska A, Haug I, Baum C. Ectomycorrhiza formation and willow growth promotion as affected by associated bacteria: Role of microbial metabolites and use of C sources. Biology and Fertility of Soils. 2010;46:139–150. https://doi.org/10.1007/s00374-009-0419-2

98. Artursson V, Finlay RD, Jansson JK. Interactions between arbuscular mycorrhizal fungi and bacteria and their potential for stimulating plant growth. Environmental Microbiology. 2006;8(1):1–10. https://doi.org/10.1111/j.1462-2920.2005.00942.x

99. Calomme MR, van den Branden K, Vanden Berghe DA. Selenium and *Lactobacillus* species. Journal of Applied Bacteriology. 1995;79(3):331–340. https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.1995.tb03145.x

100. Butler CS, Debieux CM, Dridge EJ, Splatt P, Wright M. Biomineralization of selenium by the selenate-respiring bacterium *Thauera selenatis*. Biochemical Society Transactions. 2012;40(6):1239–1243. https://doi.org/10.1042/BST20120087

101. Sura-de Jong M, Reynolds RJB, Richterova K, Musilova L, Staicu LC, Chocholata I, *et al.* Selenium hyperaccumulators harbor a diverse endophytic bacterial community characterized by high selenium resistance and plant growth promoting properties. Frontiers in Plant Science. 2015;6:113. https://doi.org/10.3389/fpls.2015.00113

102. Zhou C, Guo J, Zhu L, Xiao X, Xie Y, Zhu J, *et al. Paenibacillus polymyxa* BFKC01 enhances plant iron absorption via improved root systems and activated iron acquisition mechanisms. Plant Physiology and Biochemistry. 2016;105:162–173. https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2016.04.025

103. Sun Z, Liu K, Zhang J, Zhang Y, Xu K, Yu D, *et al.* IAA producing *Bacillus altitudinis* alleviates iron stress in *Triticum aestivum* L. seedling by both bioleaching of iron and up-regulation of genes encoding ferritins. Plant and Soil. 2017; 419:1–11. https://doi.org/10.1007/s11104-017-3218-9

104. Liu C, Ravnskov S, Liu F, Rubæk GH, Andersen MN. Arbuscular mycorrhizal fungi alleviate abiotic stresses in potato plants caused by low phosphorus and deficit irrigation/partial root-zone drying. The Journal of Agricultural Science. 2018;156(1):46–58. https://doi.org/10.1017/S0021859618000023

105. Zhang H, Sun Y, Xie X, Kim M-S, Dowd SE, Paré PW. A soil bacterium regulates plant acquisition of iron via deficiency-inducible mechanisms. The Plant Journal. 2009;58(4):568–577. https://doi.org/10.1111/j.1365-313X.2009.03803.x

106. Kamarudin AN, Seman IA, Balia Yusof ZN. Thiamine biosynthesis gene expression analysis in *Elaeis guineensis* during interactions with *Hendersonia toruloidea*. Journal of Oil Palm Research. 2017;29(2):218–226. https://doi.org/10.21894/jopr.2017.2902.06

107. Garcia-Seco D, Zhang Y, Gutierrez-Mañero FJ, Martin C, Ramos-Solano B. Application of *Pseudomonas fluorescens* to blackberry under field conditions improves fruit quality by modifying flavonoid metabolism. PLoS ONE. 2015;10(11):e0142639. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0142639

108. Singh D, Geat N, Rajawat MVS, Mahajan MM, Prasanna R, Singh S, *et al.* Deciphering the mechanisms of endophyte-mediated biofortification of Fe and Zn in wheat. Journal of Plant Growth Regulation. 2018;37:174–182. https://doi.org/10.1007/s00344-017-9716-4

109. Singh D, Geat N, Rajawat MVS, Prasanna R, Kar A, Singh AM, *et al.* Prospecting endophytes from different Fe or Zn accumulating wheat genotypes for their influence as inoculants on plant growth, yield, and micronutrient content. Annals of Microbiology. 2018;68:815–833. https://doi.org/10.1007/s13213-018-1388-1

110. Majumder S, Datta K, Datta SK. Rice biofortification: High iron, zinc, and vitamin-A to fight against "hidden hunger". Agronomy. 2019;9(12):803. https://doi.org/10.3390/agronomy9120803

111. Prasanna BM, Palacios-Rojas N, Hossain F, Muthusamy V, Menkir A, Dhliwayo T, *et al.* Molecular breeding for nutritionally enriched maize: Status and prospects. Frontiers in Genetics. 2020;10:1392. https://doi.org/10.3389/fgene.2019.01392

112. Sakellariou M, Mylona PV. New uses for traditional crops: The case of barley biofortification. Agronomy. 2020; 10(12):1964. https://doi.org/10.3390/agronomy10121964

113. Huang C, Wang H, Shi X, Wang Y, Li P, Yin H, *et al.* Two new selenite reducing bacterial isolates from paddy soil and the potential Se biofortification of paddy rice. Ecotoxicology. 2021;3:1465–1475. https://doi.org/10.1007/s10646-020-02273-6

114. Yadav R, Ror P, Rathore P, Ramakrishna W. Bacteria from native soil in combination with arbuscular mycorrhizal fungi augment wheat yield and biofortification. Plant Physiology and Biochemistry. 2020;150:222–233. https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2020.02.039

115. Durán P, Acuña JJ, Jorquera MA, Azcón R, Borie F, Cornejo P, *et al.* Enhanced selenium content in wheat grain by co-inoculation of selenobacteria and arbuscular mycorrhizal fungi: A preliminary study as a potential Se biofortification strategy. Journal of Cereal Science. 2013;57(3):275–280. https://doi.org/10.1016/j.jcs.2012.11.012

116. Singh J, Singh AV, Upadhayay VK, Khan A, Chandra R. Prolific contribution of *Pseudomonas protegens* in Zn biofortification of wheat by modulating multifaceted physiological response under saline and non-saline conditions. World Journal of Microbiology and Biotechnology. 2022;38:227. https://doi.org/10.1007/s11274-022-03411-4

117. Sarkar D, Rakshit A. Bio-priming in combination with mineral fertilizer improves nutritional quality and yield of red cabbage under Middle Gangetic Plains, India. Scientia Horticulturae. 2021;283:110075. https://doi.org/10.1016/j.scienta.2021.110075

118. Ramesh A, Sharma SK, Sharma MP, Yadav N, Joshi OP. Inoculation of zinc solubilizing *Bacillus aryabhattai* strains for improved growth, mobilization and biofortification of zinc in soybean and wheat cultivated in Vertisols of central India. Applied Soil Ecology. 2014;73:87–96. https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2013.08.009

119. Rana A, Kabi SR, Verma S, Adak A, Pal M, Shivay YS, *et al.* Prospecting plant growth promoting bacteria and cyanobacteria as options for enrichment of macro- and micronutrients in grains in rice–wheat cropping sequence. Cogent Food and Agriculture. 2015;1(1):1037379. https://doi.org/10.1080/23311932.2015.1037379

120. Singh D, Prasanna R, Sharma V, Rajawat MVS, Nishanth S, Saxena AK. Prospecting plant–microbe interactions for enhancing nutrient availability and grain biofortification. In: Gupta OP, Pandey V, Narwal S, Sharma P, Ram S, Singh GP, editors. Wheat and barley grain biofortification. Woodhead Publishing; 2020. pp. 203–228. https://doi.org/10.1016/B978-0-12-818444-8.00008-0

121. Sun Z, Yue Z, Liu H, Ma K, Li C. Microbial-assisted wheat iron biofortification using endophytic *Bacillus altitudinis* WR10. Frontiers in Nutrition. 2021;8:704030. https://doi.org/10.3389/fnut.2021.704030

122. Abat M, McLaughlin MJ, Kirby JK, Stacey SP. Adsorption and desorption of copper and zinc in tropical peat soils of Sarawak, Malaysia. Geoderma. 2012;175–176:58–63. https://doi.org/10.1016/j.geoderma.2012.01.024

123. Acuña JJ, Jorquera MA, Barra PJ, Crowley DE, de la Luz Mora M. Selenobacteria selected from the rhizosphere as a potential tool for Se biofortification of wheat crops. Biology and Fertility of Soils. 2013;49:175–185. https://doi.org/10.1007/s00374-012-0705-2

124. Sharma SK, Sharma MP, Ramesh A, Joshi OP. Characterization of zinc-solubilizing Bacillus isolates and their potential to influence zinc assimilation in soybean seeds. Journal of Microbiology and Biotechnology. 2012;22(3):352–359. https://doi.org/10.4014/jmb.1106.05063

125. Rana A, Joshi M, Prasanna R, Shivay YS, Nain L. Biofortification of wheat through inoculation of plant growth promoting rhizobacteria and cyanobacteria. European Journal of Soil Biology. 2012;50:118–126. https://doi.org/10.1016/j.ejsobi.2012.01.005

126. Singh D, Rajawat MVS, Kaushik R, Prasanna R, Saxena AK. Beneficial role of endophytes in biofortification of Zn in wheat genotypes varying in nutrient use efficiency grown in soils sufficient and deficient in Zn. Plant and Soil. 2017;416:107–116. https://doi.org/10.1007/s11104-017-3189-x

127. Sirohi G, Upadhyay A, Srivastava PS, Srivastava S. PGPR mediated Zinc biofertilization of soil and its impact on growth and productivity of wheat. Journal of Soil Science and Plant Nutrition. 2015;15(1):202–216. https://doi.org/10.4067/S0718-95162015005000017

128. Prasanna R, Bidyarani N, Babu S, Hossain F, Shivay YS, Nain L. Cyanobacterial inoculation elicits plant defense response and enhanced Zn mobilization in maize hybrids. Cogent Food and Agriculture. 2015;1(1):998507. https://doi.org/10.1080/23311932.2014.998507

129. Yasin M, El-Mehdawi AF, Pilon-Smits EAH, Faisal M. Selenium-fortified wheat: Potential of microbes for biofortification of selenium and other essential nutrients. International Journal of Phytoremediation. 2015;17(8):777–786. https://doi.org/10.1080/15226514.2014.987372

130. Patel P, Trivedi G, Saraf M. Iron biofortification in mungbean using siderophore producing plant growth promoting bacteria. Environmental Sustainability. 2018;1:357–365. https://doi.org/10.1007/s42398-018-00031-3

131. Yousaf A, Qadir A, Anjum T, Ahmad A. Identification of microbial metabolites elevating vitamin contents in barley seeds. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 2015;63(32):7304–7310. https://doi.org/10.1021/acs.jafc.5b01817

132. Asyakina LK, Isachkova OA, Kolpakova DE, Borodina EE, Boger VYu, Prosekov AYu. The effect of a microbial consortium on spring barley growth and development in the Kemerovo region, Kuzbass. Grain Economy of Russia. 2024;16(1):104–112. (In Russ.). https://doi.org/10.31367/2079-8725-2024-90-1-104-112

133. Glick BR. Plant growth-promoting bacteria: Mechanisms and applications. Scientifica. 2012;2012:963401. https://doi.org/10.6064/2012/963401

134. Rashid S, Charles TC, Glick BR. Isolation and characterization of new plant growth-promoting bacterial endophytes. Applied Soil Ecology. 2012;61:217–224. https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2011.09.011

135. Duca D, Lorv J, Patten CL, Rose D, Glick BR. Indole-3-acetic acid in plant–microbe interactions. Antonie van Leeuwenhoek. 2014;106:85–125. https://doi.org/10.1007/s10482-013-0095-y

136. Apine OA, Jadhav JP. Optimization of medium for indole-3-acetic acid production using *Pantoea agglomerans* strain PVM. Journal of Applied Microbiology. 2011;110(5):1235–1244. https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2011.04976.x

137. Dellagi A, Quillere I, Hirel B. Beneficial soil-borne bacteria and fungi: A promising way to improve plant nitrogen acquisition. Journal of Experimental Botany. 2020;71(15):4469–4479. https://doi.org/10.1093/jxb/eraa112

138. Phillips KA, Skirpan AL, Liu X, Christensen A, Slewinski TL, Hudson C, *et al. vanishing tasse*l2 Encodes a grass-specific tryptophan aminotransferase required for vegetative and reproductive development in maize. The Plant Cell. 2011;23:550–566. https://doi.org/10.1105/tpc.110.075267

139. Fahad S, Hussain S, Matloob A, Khan FA, Khaliq A, Saud S, *et al.* Phytohormones and plant responses to salinity stress: A review. Plant Growth Regulation. 2015;75:391–404. https://doi.org/10.1007/s10725-014-0013-y

140. Khan AL, Waqas M, Kang S-M, Al-Harrasi A, Hussain J, Al-Rawahi A, *et al.* Bacterial endophyte *Sphingomonas* sp. LK11 produces gibberellins and IAA and promotes tomato plant growth. Journal of Microbiology. 2014;52:689–695. https://doi.org/10.1007/s12275-014-4002-7

141. Nett RS, Montanares M, Marcassa A, Lu X, Nagel R, Charles TC, *et al.* Elucidation of gibberellin biosynthesis in bacteria reveals convergent evolution. Nature Chemical Biology. 2017;13:69–74. https://doi.org/10.1038/nchembio.2232

142. Khan AL, Hussain J, Al-Harrasi A, Al-Rawahi A, Lee I-J. Endophytic fungi: Resource for gibberellins and crop abiotic stress resistance. Critical Reviews in Biotechnology. 2015;35(1):62–74. https://doi.org/10.3109/07388551.2013.800018

143. Bömke C, Tudzynski B. Diversity, regulation, and evolution of the gibberellin biosynthetic pathway in fungi compared to plants and bacteria. Phytochemistry. 2009;70(15–16):1876–1893. https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2009.05.020

144. Bhore SJ, Nithya R, Loh CY. Screening of endophytic bacteria isolated from leaves of Sambung Nyawa [*Gynura procumbens* (Lour.) Merr.] for cytokinin-like compounds. Bioinformation. 2010;5(5):191–197. https://doi.org/10.6026/97320630005191

145. Asyakina LK, Serazetdinova YuR, Frolova AS, Fotina NV, Neverova OA, Petrov AN. Antagonistic activity of extremophilic bacteria against phytopathogens in agricultural crops. Food Processing: Techniques and Technology. 2023; 53(3):565–575. https://doi.org/10.21603/2074-9414-2023-3-2457

146. Köhl J, Kolnaar R, Ravensberg WJ. Mode of action of microbial biological control agents against plant diseases: Relevance beyond efficacy. Frontiers in Plant Science. 2019;10:845. https://doi.org/10.3389/fpls.2019.00845

147. Yin X, Li T, Jiang X, Tang X, Zhang J, Yuan L, *et al.* Suppression of grape white rot caused by *Coniella vitis* using the potential biocontrol agent *Bacillus velezensis* GSBZ09. Pathogens. 2022;11(2):248. https://doi.org/10.3390/pathogens11020248

148. Chenniappan C, Narayanasamy M, Daniel GM, Ramaraj GB, Ponnusamy P, Sekar J, *et al.* Biocontrol efficiency of native plant growth promoting rhizobacteria against rhizome rot disease of turmeric. Biological Control. 2019;129:55–64. https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2018.07.002

149. Anand A, Chinchilla D, Tan C, Mène-Saffrané L, L'Haridon F, Weisskopf L. Contribution of hydrogen cyanide to the antagonistic activity of *Pseudomonas* strains against *Phytophthora infestans*. Microorganisms. 2020;8(8):1144. https://doi.org/10.3390/microorganisms8081144

150. Lee SH, Jeon SH, Park JY, Kim DS, Kim JA, Jeong HY, *et al.* Isolation and evaluation of the antagonistic activity of *Cnidium officinale* rhizosphere bacteria against phytopathogenic fungi (*Fusarium solani*). Microorganisms. 2023;11(6):1555. https://doi.org/10.3390/microorganisms11061555

151. Báez-Astorga PA, Cázares-Álvarez JE, Cruz-Mendívil A, Quiroz-Figueroa FR, Sánchez-Valle VI, Maldonado-Mendoza IE. Molecular and biochemical characterisation of antagonistic mechanisms of the biocontrol agent *Bacillus cereus* B25 inhibiting the growth of the phytopathogen *Fusarium verticillioides* P03 during their direct interaction *in vitro*. Biocontrol Science and Technology. 2022;32(9):1074–1094. https://doi.org/10.1080/09583157.2022.2085662

152. Agarwal H, Dowarah B, Baruah PM, Bordoloi KS, Krishnatreya DB, Agarwala N. Endophytes from *Gnetum gnemon* L. can protect seedlings against the infection of phytopathogenic bacterium *Ralstonia solanacearum* as well as promote plant growth in tomato. Microbiological Research. 2020;238:126503. https://doi.org/10.1016/j.micres.2020.126503

153. Putri RE, Mubarik NR, Ambarsari L, Wahyudi AT. Antagonistic activity of glucanolytic bacteria *Bacillus subtilis* W3.15 against *Fusarium oxysporum* and its enzyme characterization. Biodiversitas. 2021;22(9):4067–4077. https://doi.org/10.13057/biodiv/d220956

154. Rosier A, Pomerleau M, Beauregard PB, Samac DA, Bais HP. Surfactin and Spo0A-dependent antagonism by *Bacillus subtilis* strain UD1022 against *Medicago sativa* phytopathogens. Plants. 2023;12(5):1007. https://doi.org/10.3390/plants12051007

155. Saechow S, Thammasittirong A, Kittakoop P, Prachya S, Thammasittirong SN-R. Antagonistic activity against dirty panicle rice fungal pathogens and plant growth-promoting activity of *Bacillus amyloliquefaciens* BAS23. Journal of Microbiology and Biotechnology. 2018;28(9):1527–1535. https://doi.org/10.4014/jmb.1804.04025

156. Choub V, Won S-J, Ajuna HB, Moon J-H, Choi S-I, Lim H-I, *et al.* Antifungal activity of volatile organic compounds from *Bacillus velezensis* CE 100 against *Colletotrichum gloeosporioides*. Horticulturae. 2022;8(6):557. https://doi.org/10.3390/horticulturae8060557

157. Evangelista-Martínez Z. Isolation and characterization of soil *Streptomyces* species as potential biological control agents against fungal plant pathogens. World Journal of Microbiology and Biotechnology. 2014;30:1639–1647. https://doi.org/10.1007/s11274-013-1568-x

158. Fira D, Dimkić I, Berić T, Lozo J, Stanković S. Biological control of plant pathogens by *Bacillus* species. Journal of Biotechnology. 2018;285:44–55. https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2018.07.044

159. Gu Q, Yang Y, Yuan Q, Shi G, Wu L, Lou Z, *et al.* Bacillomycin D produced by *Bacillus amyloliquefaciens* is involved in the antagonistic interaction with the plant-pathogenic fungus *Fusarium graminearum*. Applied and Environmental Microbiology. 2017;83(19):e01075-17. https://doi.org/10.1128/AEM.01075-17

160. Zhang L, Sun C. Fengycins, cyclic lipopeptides from marine *Bacillus subtilis* strains, kill the plant-pathogenic fungus *Magnaporthe grisea* by inducing reactive oxygen species production and chromatin condensation. Applied and Environmental Microbiology. 2018;84(18):e00445-18. https://doi.org/10.1128/AEM.00445-18

161. Sarrocco S, Esteban P, Vicente I, Bernardi R, Plainchamp T, Domenichini S, *et al.* Straw competition and wheat root endophytism of *Trichoderma gamsii* T6085 as useful traits in the bio-ogical control of fusarium head blight. Phytopathology®. 2021;111(7):1129–1136. https://doi.org/10.1094/PHYTO-09-20-0441-R

162. di Francesco A, Baraldi E. How siderophore production can influence the biocontrol activity of *Aureobasidium pullulans* against *Monilinia laxa* on peaches. Biological Control. 2021;152:104456. https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2020.104456

163. Asghari S, Harighi B, Ashengroph M, Clement C, Aziz A, Esmaeel Q, *et al.* Induction of systemic resistance to *Agrobacterium tumefaciens* by endophytic bacteria in grapevine. Plant Pathology. 2020;69(5):827–837. https://doi.org/10.1111/ppa.13175

164. Fontana DC, de Paula S, Torres AG, de Souza VHM, Pascholati SF, Schmidt D, *et al.* Endophytic fungi: Biological control and induced resistance to phytopathogens and abiotic stresses. Pathogens. 2021;10(5):570. https://doi.org/10.3390/pathogens10050570

165. Wu L, Huang Z, Li X, Ma L, Gu Q, Wu H, *et al.* Stomatal closure and SA-, JA/ET-signaling pathways are essential for *Bacillus amyloliquefaciens* FZB42 to restrict leaf disease caused by *Phytophthora nicotianae* in *Nicotiana benthamiana*. Frontiers in Microbiology. 2018;9:847. https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.00847

166. Chowdhury SP, Uhl J, Grosch R, Alquéres S, Pittroff S, Dietel K, *et al.* Cyclic lipopeptides of *Bacillus amyloliquefaciens* subsp. *plantarum* colonizing the lettuce rhizosphere enhance plant defense responses toward the bottom rot pathogen *Rhizoctonia solani*. Molecular Plant-Microbe Interactions. 2015;28(9):984–995. https://doi.org/10.1094/MPMI-03-15-0066-R

167. Nie P, Chen C, Yin Q, Jiang C, Guo J, Zhao H, *et al.* Function of miR825 and miR825* as negative regulators in *Bacillus cereus* AR156-elicited systemic resistance to *Botrytis cinerea* in *Arabidopsis thaliana*. International Journal of Molecular Sciences. 2019;20(20):5032. https://doi.org/10.3390/ijms20205032

168. Lakkis S, Trotel-Aziz P, Rabenoelina F, Schwarzenberg A, Nguema-Ona E, Clément C, *et al.* Strengthening grapevine resistance by *Pseudomonas fluorescens* PTA-CT2 relies on distinct defense pathways in susceptible and partially resistant genotypes to downy mildew and gray mold diseases. Frontiers in Plant Science. 2019;10:1112. https://doi.org/10.3389/fpls.2019.01112

169. Li Y, Guo Q, Li Y, Sun Y, Xue Q, Lai H. *Streptomyces pactum* Act12 controls tomato yellow leaf curl virus disease and alters rhizosphere microbial communities. Biology and Fertility of Soils. 2019;55:149–69. https://doi.org/10.1007/s00374-019-01339-w

170. Tjamos SE, Flemetakis E, Paplomatas EJ, Katinakis P. Induction of resistance to *Verticillium dahliae* in *Arabidopsis thaliana* by the biocontrol agent K-165 and pathogenesis-related proteins gene expression. Molecular Plant-Microbe Interactions. 2005;18(6):555–561. https://doi.org/10.1094/MPMI-18-0555

171. Ahmad T, Bashir A, Farooq S, Riyaz-Ul-Hassan S. *Burkholderia gladioli* E39CS3, an endophyte of *Crocus sativus* Linn., induces host resistance against corm-rot caused by *Fusarium oxysporum*. Journal of Applied Microbiology. 2022;132(1):495–508. https://doi.org/10.1111/jam.15190

172. Mackowiak CL, Amacher MC. Soil sulfur amendments suppress selenium uptake by alfalfa and western wheat-grass. Journal of Environmental Quality. 2008;37(3):772–779. https://doi.org/10.2134/jeq2007.0157

173. Waters BM, Sankaran RP. Moving micronutrients from the soil to the seeds: Genes and physiological processes from a biofortification perspective. Plant Science. 2011;180(4):562–574. https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2010.12.003

174. Sheoran S, Kumar S, Ramtekey V, Kar P, Meena RS, Jangir CK. Current status and potential of biofortification to enhance crop nutritional quality: An overview. Sustainability. 2022;14(6):3301. https://doi.org/10.3390/su14063301

ISSN 2074-9414 (Print)
ISSN 2313-1748 (Online)

https://doi.org/10.21603/2074-9414-2024-2-2501
https://elibrary.ru/EFYVTB

Оригинальная статья
https://fptt.ru

Скрининг и характеристика антиоксидантных свойств психрофильных микроводорослей и цианобактерий Балтийского моря

В. Ф. Долганюк[1], С. А. Сухих[1,*], Е. В. Каширских[1], Е. В. Ульрих[2], О. Е. Кремлева[3], О. О. Бабич[1]

[1] Балтийский федеральный университет имени Иммануила Канта, Калининград, Россия

[2] Калининградский государственный технический университет, Калининград, Россия

[3] Гродненский государственный университет имени Янки Купалы, Гродно, Республика Беларусь

Поступила в редакцию: 17.03.2023
Принята после рецензирования: 31.08.2023
Принята к публикации: 05.09.2023

**С. А. Сухих: stas-asp@mail.ru,*
https://orcid.org/0000-0001-7910-8388
В. Ф. Долганюк: https://orcid.org/0000-0003-0603-7456
Е. В. Каширских: https://orcid.org/0000-0003-0442-5471
Е. В. Ульрих: https://orcid.org/0000-0003-4107-7277
О. О. Бабич: https://orcid.org/0000-0002-4921-8997

© В. Ф. Долганюк, С. А. Сухих, Е. В. Каширских, Е. В. Ульрих, О. Е. Кремлева, О. О. Бабич, 2024

Аннотация.
Получение комплекса биологически активных веществ с антиоксидантной активностью из психрофильных микроводорослей и цианобактерий вызывает научный интерес, расширяет область их промышленного применения и открывает новые перспективы их использования. Целью работы являлся сбор и идентификация психрофильных микроводорослей и цианобактерий Балтийского моря, а также изучение их соединений, которые проявляют антиоксидантные свойства.
Объекты исследования – образцы психрофильных микроводорослей (*Skeletonema pseudocostatum*, *Thalassiosira pseudonana* и *Fragilariopsis kerguelensis*) и цианобактерий (*Aphanizomenon gracile* и *Anabaena cylindrica*). Образцы отобрали из природных источников в акватории Балтийского моря в Калининградской области (Куршский залив и Балтийский залив) в период с марта по май 2022 г. Анализ выделенных чистых культур осуществляли методами Пастера и проточной цитофлуориметрии. Антиоксидантную активность психрофильных микроводорослей и цианобактерий определяли путем анализа активности поглощения радикалов, восстанавливающей способности и хелатной активности с помощью спектрофотометрии.
Наибольшей антиоксидантной активностью по трем методам анализа обладала психрофильная микроводоросль *S. pseudocostatum*, которая по методу ABTS составила 17,62 мкмоль/г эквивалентов тролокса, по методу DPPH 58,16 мкмоль/г эквивалентов тролокса, по методу FRAP 3,91 мкмоль/г эквивалентов тролокса. Антиоксидантная активность *T. pseudonana* равна 12,08, 12,42 и 3,13 мкмоль/г эквивалентов тролокса. Для психрофильной микроводоросли *F. kerguelensis* этот показатель составил 13,53, 11,84 и 1,09 мкмоль/г эквивалентов тролокса. Антиоксидантная активность психрофильной цианобактерии *A. gracile* равна 15,73, 19,89 и 2,47 мкмоль/г эквивалентов тролокса. Значения антиоксидантной активности психрофильной цианобактерии *A. cylindrica* составили 12,62, 13,16 и 2,16 мкмоль/г эквивалентов тролокса.
Отобрали образцы психрофильных микроводорослей и цианобактерий из природных источников в акватории Балтийского моря (Калининградская область), которые продуцируют компоненты с высокой антиоксидантной активностью. Полученные результаты могут стать основой для разработки новой фармацевтической субстанции.

Ключевые слова. *Skeletonema pseudocostatum*, *Thalassiosira pseudonana*, *Fragilariopsis kerguelensis*, *Aphanizomenon gracile*, *Anabaena cylindrica*, микроводоросли, биологически активные вещества, скрининг, идентификация, антиоксидантная активность

Финансирование. Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (Минобрнауки России) (грант Президента Российской Федерации), проект № МК-484.2022.1.4 (соглашение № 075-15-2022-393).

Для цитирования: Скрининг и характеристика антиоксидантных свойств психрофильных микроводорослей и цианобактерий Балтийского моря / В. Ф. Долганюк [и др.] // Техника и технология пищевых производств. 2024. Т. 54. № 2. С. 212–221. https://doi.org/10.21603/2074-9414-2024-2-2501

https://doi.org/10.21603/2074-9414-2024-2-2501
https://elibrary.ru/EFYVTB

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

Screening and Profiling the Antioxidant Properties of Psychrophilic Microalgae and Cyanobacteria from the Baltic Sea

Vyacheslav F. Dolganyuk[1], Stanislav A. Sukhikh[1,*], Egor V. Kashirskih[1], Elena V. Ulrikh[2], Olga E. Kremleva[3], Olga O. Babich[1]

[1] *Immanuel Kant Baltic Federal University, Kaliningrad, Russia*

[2] *Kaliningrad State Technical University, Kaliningrad, Russia*

[3] *Yanka Kupala State University of Grodno, Grodno, Republic of Belarus*

Received: 17.03.2023
Revised: 31.08.2023
Accepted: 05.09.2023

**Stanislav A. Sukhikh: stas-asp@mail.ru, https://orcid.org/0000-0001-7910-8388*
Vyacheslav F. Dolganyuk: https://orcid.org/0000-0003-0603-7456
Egor V. Kashirskih: https://orcid.org/0000-0003-0442-5471
Elena V. Ulrikh: https://orcid.org/0000-0003-4107-7277
Olga O. Babich: https://orcid.org/0000-0002-4921-8997

© V.F. Dolganyuk, S.A. Sukhikh, E.V. Kashirskih, E.V. Ulrikh, O.E. Kremleva, O.O. Babich, 2024

Abstract.
At present, the issue of obtaining a complex of biologically active substances with antioxidant activity from psychrophilic Psychrophilic microalgae and cyanobacteria are a prospective source of biologically active antioxidant substances. New antioxidant complexes could expand the scope of their industrial application. The research objective was to identify psychrophilic microalgae and cyanobacteria from the Baltic Sea in order to study their antioxidant properties.
The research featured psychrophilic microalgae and cyanobacteria obtained from the Curonian Lagoon and the Baltic Bay in the Baltic Sea, Kaliningrad Region, Russia, in March – May 2022. The authors used the Pasteur method and the flow cytometry method to isolate pure cultures of psychrophilic microalgae and cyanobacteria. The method of spectrophotometry made it possible to study the antioxidant activity by analyzing radical scavenging, reducing ability, and chelating.
The psychrophilic microalga *Skeletonema pseudocostatum* demonstrated the highest antioxidant activity in all three methods: 17.62 μmol/g trolox equivalents according to the ABTS method, 58.16 μmol/g trolox equivalents according to the DPPH method, and 3.91 μmol/g trolox equivalents according to the FRAP method. The psychrophilic microalga *Thalassiosira pseudonana* exhibited the following values of antioxidant activity: 12.08, 12.42, and 3.13 μmol/g trolox equivalents, respectively. The antioxidant activity of the psychrophilic microalgae *Fragilariopsis kerguelensis* was 13.53, 11.84, and 1.09 μmol/g trolox equivalents, respectively. The antioxidant activity of the psychrophilic cyanobacterium *Aphanizomenon gracile* was 15.73, 19.89, and 2.47 μmol/g trolox equivalents, respectively. The antioxidant activity of the psychrophilic cyanobacterium *Anabaena cylindrica* was 12.62, 13.16, and 2.16 μmol/g trolox equivalents, respectively.
The samples of psychrophilic microalgae and cyanobacteria obtained from natural environment in the Russian Baltic Sea demonstrated good antioxidant properties, which makes them a potential raw material for new pharmaceutical substances.

Keywords. *Skeletonema pseudocostatum*, *Thalassiosira pseudonana*, *Fragilariopsis kerguelensis*, *Aphanizomenon gracile*, *Anabaena cylindrica*, microalgae, biologically active substances, screening, identification, antioxidant activity

Funding. The research was supported by the Presidential Grant from the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation (Minobrnauki), project no. MK-484.2022.1.4, agreement no. 075-15-2022-393.

For citation: Dolganyuk VF, Sukhikh SA, Kashirskih EV, Ulrikh EV, Kremleva OE, Babich OO. Screening and Profiling the Antioxidant Properties of Psychrophilic Microalgae and Cyanobacteria from the Baltic Sea. Food Processing: Techniques and Technology. 2024;54(2):212–221. (In Russ.). https://doi.org/10.21603/2074-9414-2024-2-2501

Введение

Образование активных форм кислорода при недостаточной антиоксидантной защите приводит к окислительному стрессу или нарушению прооксидантно-антиоксидантного баланса в пользу прооксидантов. Это может вызывать повреждение клеток, что влечет за собой развитие ряда патологических изменений [1–3].

Антиоксидантная система включает ферментативное (супероксиддисмутаза, каталаза, глутатионпероксидаза, глутатионтрансфераза и др.) и неферментативное

звено (*α*-токоферол, ретинол, аскорбиновая кислота и др.). К биоантиоксидантам относятся вещества биогенного происхождения, способные при химическом взаимодействии тормозить свободнорадикальное окисление, независимо от механизма их действия, но без необратимой инактивации ферментативных и генетических систем. В нормальных физиологических концентрациях они необходимы для осуществления биоокисления (дыхания, гликолиза), стимулируют и нормализуют его. Создание суммарной антиокислительной активности тканей является результатом совместного действия жирорастворимых (*α*-токоферол) и водорастворимых (сульфгидрильные соединения) групп биоантиокислителей [4]. По механизму действия биоантиокислители можно разделить на четыре группы: 1) антирадикальные ингибиторы (фенолы); 2) соединения, которые восстанавливают пероксиды (серусодержащие); 3) вещества, которые связывают катализаторы перекисного окисления липидов (ионы металлов переменной валентности); 4) тушители, безызлучательно инактивирующие синглетный кислород (*α*-токоферол, каротиноиды) [1].

Вещества, которые обладают антиоксидантной активностью, широко применяются в медицине для коррекции процессов свободнорадикального окисления при различных заболеваниях. Антиоксиданты способны восстановить окислительные процессы, защищая молекулы-мишени и удаляя из среды активные формы кислорода [5]. В организме человека существует физиологическая антиоксидантная система, которая поддерживает окислительно-антиоксидантный баланс в органах и системах. Однако из-за ее сложности существует низкая вероятность того, что заболевания современного человека будут являться следствием дефицита одного единственного вещества [6]. Эндогенный антиоксидантный механизм защиты человека, несмотря на свою эффективность, недостаточен. Поэтому требуется дополнительное введение антиоксидантов извне. Теоретические и практические данные позволяют предположить, что использование внешних антиоксидантов может привести к снижению риска сердечно-сосудистых заболеваний, рака и большой группы других заболеваний, в которых свободные радикалы играют важную роль [7].

Широкий интерес вызывает вопрос получения комплекса биологически активных веществ с антиоксидантной активностью из макро- и микроводорослей. Водоросли отличаются высоким содержанием разнообразных антиоксидантов, молекулы которых относятся к нескольким классам: полифенолы, хлорофиллы, *β*-каротины (ксантофильные каротины), стероиды, аминокислоты и др. [8]. Богатый состав биологически активных веществ позволяет использовать водоросли в качестве перспективного источника комплекса антиоксидантов [9, 10].

Микроводоросли, являясь одноклеточными фотосинтезирующими микроорганизмами, преобразуют солнечную энергию в биомассу эффективнее, чем наземные растения [11, 12]. Основными производимыми видами микроводорослей являются *Skeletonema pseudocostatum*, *Thalassiosira pseudonana* и *Fragilariopsis kerguelensis*, а также сине-зеленые микроводоросли (цианобактерии) *Aphanizomenon gracile* и *Anabaena cylindrica*. Они находят применение в производстве кормов для рыбы и сельскохозяйственных животных, органических удобрений, а также ценных экстрактов полиненасыщенных жирных кислот, пигментов, нутрицевтиков, антиоксидантов, противораковых и антимикробных агентов [13].

Микроводоросли рассматриваются как новый источник ценных химических веществ. Данный факт привел к развитию технологий их культивирования в фотобиореакторах с дальнейшей переработкой биомассы [14]. Возможности использования биомассы микроводорослей и их метаболитов, таких как полисахариды, в биотехнологических производствах приводят к снижению себестоимости продуктов биосинтеза [15]. К эукариотическим и прокариотическим микроводорослям, продуцирующим и выделяющим большое количество полисахаридов в окружающую среду, относятся *S. pseudocostatum*, *T. pseudonana* и *F. kerguelensis*, а также цианобактерии *A. gracile* и *A. cylindrica*.

Экзополисахариды – это высокомолекулярные полимеры, состоящие из остатков сахаров, которые секретируются микроводорослями в окружающую среду и могут служить барьером между клетками и окружающей средой [16, 17]. Эти соединения привлекают к себе внимание в качестве потенциального источника лекарственных субстанций, поскольку они не токсичны и обладают иммуномодулирующим, антиоксидантным, противовоспалительным, антимикробным и антибиопленочным действиями [18]. Экзополисахариды морских цианобактерий и микроводорослей отличаются от полисахаридов из наземных растений тем, что для них можно создать определенные воспроизводимые контролируемые параметры производства. В результате этого исключается экологическое воздействие и достигается высокое качество конечного продукта [19]. В последние годы исследования ученых нацелены на изучение экзополисахаридов из цианобактерий и микроводорослей. Поскольку эти микроорганизмы выживают в сложных условиях высокой или низкой температуры и высокого атмосферного давления, то экзополисахариды, выделенные из них, обладают уникальными свойствами [20]. Экзополисахариды рассматриваются авторами не как ценные молекулы, а как побочные продукты при получении пигментов или липидов [21].

Выделение антиоксидантного комплекса из психрофильных микроводорослей и цианобактерий, которые еще не были изучены, может расширить область их промышленного применения и открыть новые перспективы использования. Из-за разнообразия психрофильных микроводорослей и цианобактерий, их

высокой метаболической гибкости и различных условий культивирования их реальный потенциал еще не оценен полностью [22]. Инновационные разработки фундаментальных основ биосинтеза антиоксидантных соединений психрофильных микроводорослей и цианобактерий, выделенных из акватории Балтийского моря, и создание на их основе новых фармацевтических субстанций будут востребованы в настоящее время [23].

Целью работы являлся сбор и идентификация психрофильных микроводорослей и цианобактерий Балтийского моря, а также изучение их соединений, которые проявляют антиоксидантные свойства.

Новизна работы заключается в отборе и изучении антиоксидантных свойств психрофильных микроскопических водорослей и цианобактерий из акватории Балтийского моря (Калининградская область) для последующего их использования при создании новых фармацевтических субстанций.

Объекты и методы исследования

Провели отбор образцов психрофильных микроводорослей и цианобактерий из природных источников (вода, песок, почва). Отбор природных образцов осуществляли в период с марта по май 2022 г. в акватории Балтийского моря Калининградской области (Куршский залив (55°07′00″ с.ш. 21°01′00″ в.д.) и Балтийский залив (54°29′ с.ш. 19°46′ в.д.)). Отбор проб микроводорослей проводили следующим образом [24].

При изучении микроводорослей поверхностных слоев воды пробы отбирали, зачерпывая воду в сосуд определенного объема. В водоемах с бедным фитопланктоном отбирали пробы объемом не менее 1 л параллельно с сетевыми сборами, которые позволяют улавливать малочисленные и сравнительно крупные объекты. В водоемах с богатым фитопланктоном объем количественной пробы уменьшали до 0,5 л и даже до 0,25 л (например, при «цветении» воды).

Сгущение количественных проб микроводорослей осуществляли осадочным методом после их предварительной фиксации и отстаивания в темном месте в течение 15–20 дней путем отсасывания среднего слоя воды с помощью стеклянной трубки, один конец которой затянут мельничным ситом № 77 в несколько слоев, а второй соединен с резиновым шлангом. Отсасывание проводили медленно и осторожно, чтобы не допустить нарушения осадка и засасывания поверхностного слоя пробы. Сгущенную таким способом пробу взбалтывали и, замерив ее объем, переносили в сосуд меньшего размера. После забора образцы исследовали в течение 3-х суток.

Выделение чистых культур психрофильных микроводорослей и цианобактерий, способных активно накапливать биомассу и целевой продукт – антиоксидантный комплекс – и пригодных для культивирования в лабораторных условиях, проводили из накопительных культур, в которых наблюдался их рост [25]. Для получения накопительных культур исследуемые образцы природных источников (вода, песок, почва) вносили в питательную среду BBM (ООО «Диа-М», Москва, Россия) [26]. Использовали 50 образцов психрофильных микроводорослей и цианобактерий, выделенных в акватории Балтийского моря в различных регионах Калининградской области. У 10 образцов на первичном этапе получения накопительных культур обнаружили рост и развитие психрофильных микроводорослей и цианобактерий.

Выделение чистых культур психрофильных микроводорослей и цианобактерий из накопительной культуры осуществляли двумя методами:

– методом Пастера, основанным на последовательном разведении психрофильных микроводорослей и цианобактерий и последующем разделении образующихся колоний микроорганизмов на агаризованной питательной среде BBM [27];
– методом проточной цитофлуориметрии, основанным на регистрации оптических параметров находящихся в потоке клеток по сигналам светорассеяния и флуоресценции. Для детекции клеток штаммов психрофильных микроводорослей и цианобактерий проводили измерения светового рассеяния вперед и флуоресценцию хлорофилла *a* (красная область спектра, длина волны более 650 нм) [28].

Для доказательства способности психрофильных микроводорослей и цианобактерий продуцировать полисахариды определяли их антиоксидантную активность путем анализа активности по поглощению радикалов, восстанавливающей способности и хелатной активности [29].

При определении антиоксидантной активности методом DPPH 20 мкл образца психрофильных микроводорослей и цианобактерий или стандартного раствора (тролокса) смешивали с 300 мкл свежеприготовленного 0,1 мМ раствора 2,2-дифенил-1-пикрилгидразила. Смесь инкубировали в темноте при комнатной температуре в течение 30 мин. Снижение оптической плотности, по сравнению с контролем, состоящем из 0,1 мМ раствора 2,2-дифенил-1-пикрилгидразила и растворителя (метанола), регистрировали с использованием двухлучевого спектрофотометра UV-3600 (Shimadzu, Киото, Япония) при 515 нм [30].

При определении антиоксидантной активности методом ABTS предварительно готовили раствор с реактивом ABTS. Данный раствор получали путем смешивания аликвот 7,0 мМ раствора реактива ABTS и 2,45 мМ раствора персульфата калия. Раствор выдерживали 16 ч в темном месте при комнатной температуре. Для запуска реакции 300 мкл раствора катионрадикала ABTS+ добавляли к 20 мкл психрофильных микроводорослей и цианобактерий или стандарта (тролокс). Оптическую плотность измеряли с использованием двухлучевого спектрофотометра UV-3600 при 734 нм после инкубации смеси в течение 15 мин при 37 °С в темноте. В качестве контроля использовали пробу с реактивом ABTS и соответствующим растворителем (метанолом) [31].

Для определения восстанавливающей активности психрофильных микроводорослей и цианобактерий использовали свежеприготовленный реагент FRAP. Его получали путем смешивания 10 частей 0,3 М ацетатного буфера (pH 3,6), одной части 10 мМ раствора 2,4,6-трипиридил-s-триазина в 40 мМ HCl и одной части 20 мМ водного раствора хлорида железа $FeCl_3 \times 6H_2O$. Реакцию запускали смешиванием 300 мкл реагента FRAP и 20 мкл испытуемого антиоксидантного комплекса или стандартного раствора (тролокс). Время реакции 10 мин при 37 °C в темноте. Оптическую плотность измеряли с использованием двухлучевого спектрофотометра UV-3600 при 593 нм. В качестве контроля использовали пробу с реагентом FRAP и соответствующим растворителем (метанолом).

При измерении антиоксидантной активности методами DPPH, ABTS и FRAP в качестве стандартного раствора использовали растворы тролокса (6-гидрокси-2,5,7,8-тетраметилхроман-2-карбоновая кислота) известной концентрации. Результаты анализов психрофильных микроводорослей и цианобактерий выражали в мкмоль на грамм эквивалентов тролокса (мкмоль/г эквивалентов тролокса). Все спектрофотометрические измерения были выполнены с использованием устройства для чтения CLARIOstar (BMG Labtech, Ортенберг, Германия) [12].

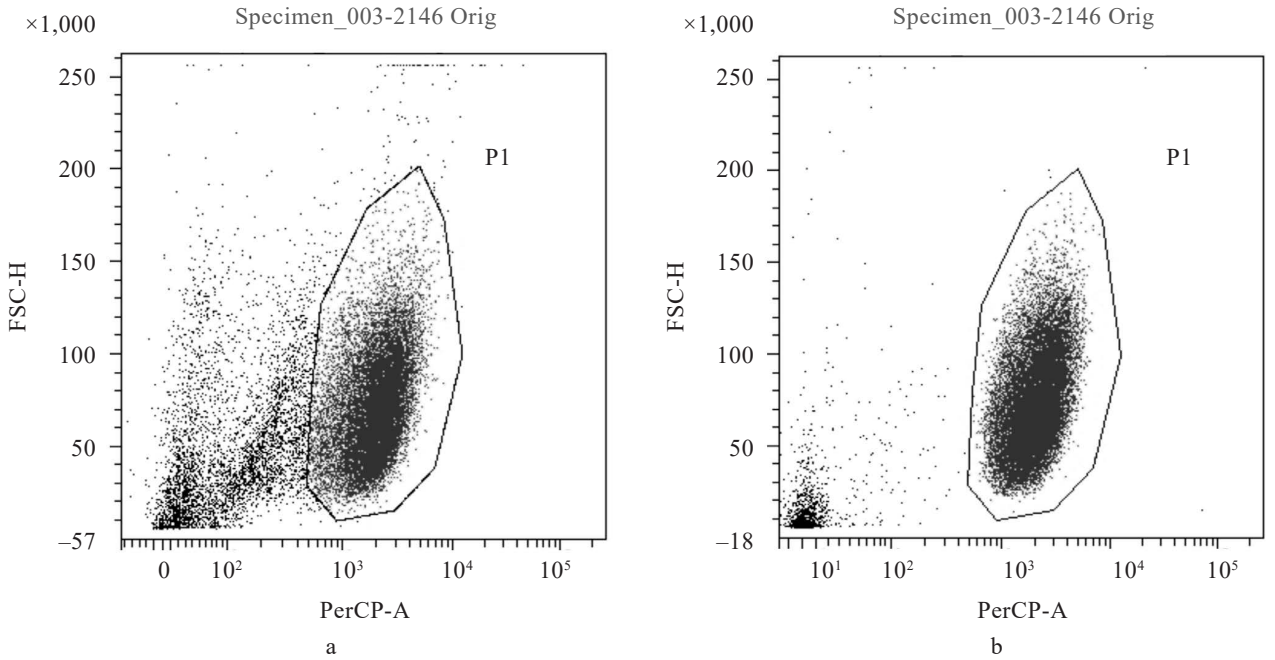
Все реактивы чистотой х.ч. и выше приобретали в ООО «Диа-М.

Результаты и их обсуждение

Антиоксидантный комплекс психрофильных микроводорослей и цианобактерий – это комплекс полисахаридов, который обладает способностью ингибировать окисление молекул и имеет множество медицинских и фармакологических применений [23].

Пример цитограммы, полученной с помощью проточного цитофлуориметра CytoFLEX (Beckman Coulter, США), образца накопительной культуры до и после сортировки клеток психрофильных микроводорослей и цианобактерий, локализованных в накопительной культуре, представлен на рисунке 1. На полученных цитограммах обнаружено несколько кластеров частиц и клеток микроорганизмов. Анализ цитограмм позволил сделать вывод о том, что накопительная культура содержит в себе разнородный состав микроорганизмов.

На рисунке 1 зона, которая характеризуется наибольшим поглощением и рассеиванием при длине волны 650 нм, выделена красным цветом (в центре окружности) и представляет собой область P1. Область P1 соответствует наличию живых клеток психрофильных микроводорослей в накопительной культуре. После соответствующего разделения из 10 накопительных культур, в которых наблюдался рост и развитие микроорганизмов, выявлено 5 штаммов психрофильных микроводорослей и цианобактерий, которые являлись аксеничными и показывали стабильность при культивировании в лабораторных условиях. Отобрали образцы



Ось X (PerCP-A) соответствует каналу флюоресценции 695/40 нм, ось Y (FSC-H) – светорассеянию вперед, область P1 – сигналу в области эмиссии хлорофилла микроводорослей

Рисунок 1. Цитограмма, полученная с помощью проточного цитофлуориметра CytoFLEX, образца накопительной культуры до (a) и после (b) сортировки клеток микроводорослей

Figure 1. Cytogram obtained using a CytoFLEX flow cytometer of enrichment culture sample before (a) and after (b) microalgae cell sorting

психрофильных микроводорослей и цианобактерий из природных источников в акватории Балтийского моря (Калининградская область) в количестве 50 шт. У 10 образцов на первичном этапе получения накопительных культур обнаружили рост и развитие психрофильных микроводорослей и цианобактерий.

Результаты выделения штаммов психрофильных микроводорослей и цианобактерий в акватории Балтийского моря из природных источников Калининградской области представлены в таблице 1.

Для идентификации выделенных из накопительной культуры штаммов психрофильных микроводорослей и цианобактерий определили частичные последовательности гена 18S и/или 16S рРНК. После этого провели сравнительный анализ с последовательностями из базы Genbank. Результаты сравнительного анализа последовательности гена 18S рРНК свидетельствуют о том, что в акватории Балтийского моря из природных источников (почва, вода, песок) выделены зеленые микроводоросли *Skeletonema pseudocostatum*, *Thalassiosira pseudonana* и *Fragilariopsis kerguelensis*, а также сине-зеленые микроводоросли (цианобактерии) *Aphanizomenon gracile* и *Anabaena cylindrica*.

Среди антиоксидантных соединений микроводорослей можно выделить аскорбиновую кислоту, глутатион, токоферолы, фенольные соединения и пигменты [32]. Аскорбиновая кислота участвует в защите фотосинтетического аппарата посредством участия в регенерации каротиноидов ксантофиллового цикла (кофактор виолаксантиндеэпоксидазы) и α-токоферола, которые связанны с мембранами [33]. Глутатион представляет собой водорастворимый трипептид (l-γ-глутамил-l-цистеинилглицин), присутствующий во всех клеточных компартментах, которые играют решающую роль в антиоксидантном ответе [34]. Токоферолы или витамин Е и токотриенолы являются жирорастворимыми молекулами, синтезируемыми только фотосинтезирующими организмами и расположенными в липидных бислоях мембран, главным образом в мембранах хлоропластов. Основными молекулами фенольных соединений, идентифицированными в микроводорослях, являются флороглюцинол, флавоноиды и фенольные кислоты: галловая, протокатеховая, кофейная, хлорогеновая, ванилиновая, п-оксибензойная и салициловая [35]. Среди пигментов можно упомянуть мареннин – это сине-зеленый пигмент, который проявляет уникальные антиоксидантные свойства против свободных радикалов [32].

Результаты определения количества полисахаридов и антиоксидантной активности психрофильных микроводорослей и цианобактерий *S. pseudocostatum*, *T. pseudonana*, *F. kerguelensis*, *A. gracile* и *A. cylindrica*, представлены в таблице 2.

Анализ экспериментальных данных показывает, что наибольшее количество полисахаридов накапливается в культуральной жидкости (КЖ) *S. pseudocostatum* (1,17 ± 0,01 мг/г с.в.) при среднем содержании клеток в КЖ 1,409 ± 0,050 г/л, наименьшее – в КЖ *T. pseudonana* (0,45 ± 0,01 мг/г с.в.) при среднем содержании клеток в КЖ 0,790 ± 0,030 г/л. При наибольшем среднем содержании клеток в КЖ *A. gracile* (1,507 ± 0,050 г/л) содержание полисахаридов в данной цианобактерии составило 1,09 ± 0,01 мг/г с.в. В микроводоросли *F. kerguelensis* при среднем содержании клеток в КЖ 1,262 ± 0,050 г/л накапливалось 0,89 ± 0,01 мг/г с.в. полисахаридов. В цианобактерии *A. cylindrica* при среднем содержании клеток в КЖ 0,879 ± 0,030 г/л накапливалось 0,69 ± 0,01 мг/г с.в. полисахаридов.

Таблица 1. Результаты выделения штаммов психрофильных микроводорослей и цианобактерий в акватории Балтийского моря из природных источников Калининградской области

Table 1. Strains of psychrophilic microalgae and cyanobacteria isolated from the Russian Baltic Sea

Наименование пункта сбора образца	Количество отобранных образцов	Количество накопительных культур, в которых наблюдался рост и развитие психрофильных микроводорослей и цианобактерий	Количество выделенных культур психрофильных микроводорослей и цианобактерий
Куршский залив, поселок Морское (песок, почва и вода)	13	2	1
Куршский залив, поселок Лесной (почва и вода)	8	1	0
Куршский залив, поселок Матросово (почва и вода)	4	2	1
Куршский залив, поселок Рыбачий (почва и вода)	7	1	1
Балтийский залив, поселок Дивное (почва и вода)	8	1	0
Балтийский залив, поселок Цветное (песок, почва и вода)	3	2	2
Балтийский залив, поселок Лунино (почва, вода)	7	1	0

Таблица 2. Содержание полисахаридов и антиоксидантная активность психрофильных микроводорослей и цианобактерий

Table 2. Polysaccharide content and antioxidant activity of psychrophilic microalgae and cyanobacteria

Название психрофильных микроводорослей и цианобактерий	Среднее содержание клеток в КЖ (ОП 750) в конце культивирования, г/л	Среднее общее содержание полисахаридов в КЖ (ОП 750) в конце культивирования, мг/г с.в.	Антиоксидантная активность, мкмоль/г эквивалентов тролокса		
			ABTS	DPPH	FRAP
Skeletonema pseudocostatum	1,409 ± 0,050	1,17 ± 0,01	17,62 ± 0,91	58,16 ± 3,90	3,91 ± 0,12
Thalassiosira pseudonana	0,790 ± 0,030	0,45 ± 0,01	12,08 ± 0,62	12,42 ± 0,43	3,13 ± 0,26
Fragilariopsis kerguelensis	1,262 ± 0,050	0,89 ± 0,01	13,53 ± 0,73	11,84 ± 0,36	1,09 ± 0,13
Aphanizomenon gracile	1,507 ± 0,050	1,09 ± 0,01	15,73 ± 0,82	19,89 ± 0,97	2,47 ± 0,23
Anabaena cylindrica	0,879 ± 0,030	0,69 ± 0,01	12,62 ± 0,64	13,16 ± 0,53	2,16 ± 0,24

Примечание: КЖ – культуральная жидкость; ОП – оптическая плотность.
Note: КЖ – culture fluid; ОП – optical density.

Согласно данным таблицы 2 наибольшей антиоксидантной активностью по всем трем методам обладает психрофильная микроводоросль *S. pseudocostatum*. Антиоксидантная активность по методу ABTS для данной микроводоросли составила 17,62 ± 0,91 мкмоль/г эквивалентов тролокса, по методу DPPH – 58,16 ± 3,90 мкмоль/г эквивалентов тролокса, по методу FRAP – 3,91 ± 0,12 мкмоль/г эквивалентов тролокса. Психрофильная микроводоросль *T. pseudonana* проявляла следующие значения антиоксидантной активности: 12,08 ± 0,62, 12,42 ± 0,43 и 3,13 ± 0,26 мкмоль/г эквивалентов тролокса. Антиоксидантная активность психрофильной микроводоросли *F. kerguelensis* составила 13,53 ± 0,73, 11,84 ± 0,36 и 1,09 ± 0,13 мкмоль/г эквивалентов тролокса. Антиоксидантная активность психрофильной цианобактерии *A. gracile* составила 15,73 ± 0,82, 19,89 ± 0,97 и 2,47 ± 0,23 мкмоль/г эквивалентов тролокса. Величина антиоксидантной активности психрофильной цианобактерии *A. cylindrica* оказалась равной 12,62 ± 0,64, 13,16 ± 0,53 и 2,16 ± 0,24 мкмоль/г эквивалентов тролокса.

Повышенная антиоксидантная активность выделенных и очищенных психрофильных микроводорослей и цианобактерий *S. pseudocostatum*, *T. pseudonana*, *F. kerguelensis*, *A. gracile* и *A. cylindrica* связана со взаимным экранированием восстанавливающих центров антиоксидантного комплекса (экзо- и эндополисахаридов) и увеличением их доступности за счет конформационных изменений макромолекул, вызванных образованием внутри- и межмолекулярных водородных связей [36].

Особенность накопления биомассы микроводорослей заключается в наличии в ней большого количества биологически активных веществ, лабильных к различным условиям. Количество биомассы микроводорослей возрастает в весенние месяцы с увеличением количества освещения и протеканием процесса фотосинтеза. На весенние месяцы приходится логарифмическая фаза развития – наибольшее накопление биомассы и соединений, обладающих антиоксидантной активностью [37]. Дальше наступают фаза замедления и стационарная фаза.

К антиоксидантным соединениям относятся также редуцирующие (восстанавливающие) сахара микроводорослей – это биомолекулы, которые действуют как восстановители, т. е. они могут отдавать электроны другой молекуле.

Подобно клеточным анализам оценка антиоксидантной активности экстрактов микроводорослей в экспериментах *in vivo* ограничена по сравнению с анализами *in vitro*. В этих исследованиях использовались различные анализы антиоксидантов *in vitro* в сочетании с другими физиологическими измерениями, такими как активность антиоксидантных ферментов на различных моделях животных (например, креветки, курицы, сомы, крысы, палтусы или форели) для оценки влияния микроводорослей [38, 39]. Микроводоросли (*Schizochytrium* sp., *Chlorella vulgaris*, *Amphora coffeaformis*, *Schizochytrium limacinum*, *Acutodesmus obliquus*, *Nannochloropsis* spp., *Tetraselmis chuii* и *Botryococcus braunii*) включались в корм животным в виде сухих микроводорослей с процентом включения от 1 до 10 % или в виде молекулярного эквивалента данных антиоксидантных соединений. Результаты варьировались в зависимости от вида микроводорослей из-за отсутствия протестированных микроводорослей к снижению показателей окислительного стресса, таких как содержание малонового диальдегида или перекиси водорода, или к уменьшению повреждения ДНК [39–41]. Включение микроводорослей в корм положительно влияет на физиологию животных. Это является перспективным для использования микроводорослей в пищевой промышленности как в питании людей, так и животных в качестве функциональных ингредиентов. Это поднимает вопрос о биодоступности антиоксидантного соединения в матрице водорослей и перевариваемости протестированных микроводорослей [42].

Выводы

Выявили 5 штаммов психрофильных микроводорослей и цианобактерий, которые являлись аксеничными и показывали стабильность при культивировании в лабораторных условиях. С помощью сравнительного анализа последовательности генов 16S ribosomal RNA и 18S rRNA идентифицировали 3 штамма психрофильных зеленых микроводорослей *Skeletonema pseudocostatum*, *Thalassiosira pseudonana* и *Fragilariopsis kerguelensis*, а также 2 штамма психрофильных сине-зеленых микроводорослей (цианобактерий) *Aphanizomenon gracile* и *Anabaena cylindrica*.

Изучили способность психрофильных микроводорослей и цианобактерий *S. pseudocostatum*, *T. pseudonana*, *F. kerguelensis*, *A. gracile* и *A. cylindrica* продуцировать антиоксидантный комплекс, в состав которого входят полисахариды: эндо- и экзополисахариды. Способность психрофильных микроводорослей и цианобактерий *S. pseudocostatum*, *T. pseudonana*, *F. kerguelensis*, *A. gracile* и *A. cylindrica* продуцировать антиоксидантный комплекс доказана наличием антиоксидантной активности психрофильных микроводорослей и цианобактерий. Антиоксидантную активность определили методами удаления радикалов с 2,2-дифенил-1-пикрилгидразилом и восстановления с ионами железа и раствора 2,4,6-трипиридил-s-триазином. Наибольшей антиоксидантной активностью обладает психрофильная микроводоросль *S. pseudocostatum*.

Критерии авторства

Фактический вклад каждого автора: В. Ф. Долганюк – 20 %, С. А. Сухих – 20 %, Е. В. Каширских – 10 %, Е. В. Ульрих – 15 %, О. Е. Кремлева – 10 %, О. О. Бабич – 2 %.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Contribution

V.F. Dolganyuk – 20%, S.A. Sukhikh – 20%, E.V. Kashirskih – 10%, E.V. Ulrikh – 15%, O.E. Kremleva – 10%, O.O. Babich – 25%.

Conflict of interest

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

References/Список литературы

1. Sobakar' MS, Shih EV. Antioxidant therapy and metabolic approaches to treatment of cardio-vascular system diseases. Journal Biomed. 2010;(3):10–21. (In Russ.). [Собакарь М. С., Ших Е. В. Антиоксидантная терапия и метаболические подходы к лечению заболеваний сердечно-сосудистой системы // Биомедицина. 2010. № 3. С. 10–21.]. https://www.elibrary.ru/NUJCKZ

2. 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

3. Prosekov AYu, Dyshlyuk LS, Milentyeva IS, Sykhikh SA, Babich OO, Ivanova SA, *et al.* Antioxidant and antimicrobial activity of bacteriocin-producing strains of lactic acid bacteria isolated from the human gastrointestinal tract. Progress in Nutrition. 2017;19(1):67–80. https://doi.org/10.23751/pn.v19i1.5147

4. Nikitina OA, Darenskaya MA, Semenova NV, Kolesnikova LI. Antioxidant defense system: Regulation of metabolic processes, genetic determinants, methods of determination. The Siberian Scientific Medical Journal. 2022;42(3):4–17. (In Russ.). https://doi.org/10.18699/SSMJ20220301

5. Coulombier N, Nicolau E, le Déan L, Antheaume C, Jauffrais T, Lebouvier N. Impact of light intensity on antioxidant activity of tropical microalgae. Marine Drugs. 2020;18(2):122. https://doi.org/10.3390/md18020122

6. Coulombier N, Blanchier P, le Dean L, Barthelemy V, Lebouvier N, Jauffrais T. The effects of CO_2-induced acidification on *Tetraselmis* biomass production, photophysiology and antioxidant activity: A comparison using batch and continuous culture. Journal of Biotechnology. 2021;325:312–324. https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2020.10.005

7. Coulombier N, Nicolau E, le Déan L, Barthelemy V, Schreiber N, Brun P, *et al.* Effects of nitrogen availability on the antioxidant activity and carotenoid content of the microalgae *Nephroselmis* sp. Marine Drugs. 2020;18(9):453. https://doi.org/10.3390/md18090453

8. Paliwal C, Mitra M, Bhayani K, Bharadwaj VSV, Ghosh T, Dubey S, *et al.* Abiotic stresses as tools for metabolites in microalgae. Bioresource Technology. 2017;244:1216–1226. https://doi.org/10.1016/j.biortech.2017.05.058

9. Alloyarova YuV, Kolotova DS, Derkach SR. Nutritional and therapeutic potential of functional components of brown seaweed: A review. Foods and Raw Materials. 2024;12(2):398–419. https://doi.org/10.21603/2308-4057-2024-2-616

10. Sathasivam R, Ki J-S. A review of the biological activities of microalgal carotenoids and their potential use in healthcare and cosmetic industries. Marine Drugs. 2018;16(1):26. https://doi.org/10.3390/md16010026

11. Gill SS, Tuteja N. Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. Plant Physiology and Biochemistry. 2010;48(12):909–930. https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2010.08.016

12. Dolganyuk V, Belova D, Babich O, Katserov D, Patyukov N, Sukhikh S, *et al.* Microalgae: A promising source of valuable bioproducts. Biomolecules. 2020;10(8):1153. https://doi.org/10.3390/biom10081153

13. Gulcin İ. Antioxidants and antioxidant methods: An updated overview. Archives of Toxicology. 2020;94:651–715. https://doi.org/10.1007/s00204-020-02689-3

14. Huang JJ, Lin S, Xu W, Cheung PCK. Occurrence and biosynthesis of carotenoids in phytoplankton. Biotechnology Advances. 2017;35(5):597–618. https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2017.05.001

15. Ribeiro D, Freitas M, Silva AMS, Carvalho F, Fernandes E. Antioxidant and pro-oxidant activities of carotenoids and their oxidation products. Food and Chemical Toxicology. 2018;120:681–699. https://doi.org/10.1016/j.fct.2018.07.060

16. Yu M, Chen M, Gui J, Huang S, Liu Y, Shentu H, *et al.* Preparation of *Chlorella vulgaris* polysaccharides and their antioxidant activity *in vitro* and *in vivo*. International Journal of Biological Macromolecules. 2019;137:139–150. https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.06.222

17. Sukhikh SA, Budenkova EA, Boychenko Yu-DS, Anokhova VD, Dolganyuk VF, Kashirskih EV. Optimizing the production of polysaccharides from *Cyanobacterium* sp. IPPAS B-1200. Food Processing: Techniques and Technology. 2023; 53(3):630–641. (In Russ.). https://doi.org/10.21603/2074-9414-2023-3-2463

18. Gürlek C, Yarkent Ç, Köse A, Tuğcu B, Gebeloğlu IK, Öncel SŞ, *et al.* Screening of antioxidant and cytotoxic activities of several microalgal extracts with pharmaceutical potential. Health and Technology. 2020;10:111–117. https://doi.org/10.1007/s12553-019-00388-3

19. Allen KM, Habte-Tsion H-M, Thompson KR, Filer K, Tidwell JH, Kumar V. Freshwater microalgae (*Schizochytrium* sp.) as a substitute to fish oil for shrimp feed. Scientific Reports. 2019;9:6178. https://doi.org/10.1038/s41598-019-41020-8

20. Laroche C. Exopolysaccharides from microalgae and cyanobacteria: Diversity of strains, production strategies, and applications. Marine Drugs. 2022;20(5):336. https://doi.org/10.3390/md20050336

21. Nacer W, Baba Ahmed FZ, Merzouk H, Benyagoub O, Bouanane S. Evaluation of the anti-inflammatory and antioxidant effects of the microalgae *Nannochloropsis gaditana* in streptozotocin-induced diabetic rats. Journal of Diabetes and Metabolic Disorders. 2020;19:1483–1490. https://doi.org/10.1007/s40200-020-00681-3

22. Qiao H, Hu D, Ma J, Wang X, Wu H, Wang J. Feeding effects of the microalga *Nannochloropsis* sp. on juvenile turbot (*Scophthalmus maximus* L.). Algal Research. 2019;41:101540. https://doi.org/10.1016/j.algal.2019.101540

23. Kashirskikh EV, Asyakina LK, Nadtsonov DD. On physicochemical properties of microalgae of the Baltic Sea. Vestnik IKBFU. Natural and Medical Sciences. 2022;(1):88–97. (In Russ.). [Каширских Е. В., Асякина Л. К., Надцонов Д. Д. Исследование физико-химических свойств микроводорослей Балтийского моря // Вестник Балтийского федерального университета им. И. Канта. Серия: Естественные и медицинские науки. 2022. № 1. С. 88–97.]. https://www.elibrary.ru/DPEBHT

24. Pereira H, Barreira L, Mozes A, Florindo C, Polo C, Duarte CV, *et al.* Microplate-based high throughput screening procedure for the isolation of lipid-rich marine microalgae. Biotechnology for Biofuels and Bioproducts. 2011;4:61. https://doi.org/10.1186/1754-6834-4-61

25. López-Hernández J-F, Kean-Meng T, Asencio-Alcudia G-G, Asyraf-Kassim M, Alvarez-González C-A, Márquez-Rocha F-J. Sustainable microalgae and cyanobacteria biotechnology. Applied Sciences. 2022;12(14):6887. https://doi.org/10.3390/app12146887

26. Temraleeva AD, Dronova SA, Moskalenko SV, Didovich SV. Modern methods for isolation, purification, and cultivation of soil cyanobacteria. Microbiology. 2016;85:389–399. https://doi.org/10.1134/S0026261716040159

27. Gao S, Kong Y, Yu J, Miao L, Ji L, Song L, *et al.* Isolation of axenic cyanobacterium and the promoting effect of associated bacterium on axenic cyanobacterium. BMC Biotechnology. 2020;20:61. https://doi.org/10.1186/s12896-020-00656-5

28. Takahashi T. Routine management of microalgae using autofluorescence from chlorophyll. Molecules. 2019;24(24): 4441. https://doi.org/10.3390/molecules24244441

29. Dolganyuk VF, Kashirskikh EV, Budenkova EA, Andreeva AP, Sukhikh SA. Study of morphological features and growth parameters of psychrophilic microalgae and cyanobacteria. Food Systems. 2022;5(4):289–297. (In Russ.). https://doi.org/10.21323/2618-9771-2022-5-4-289-297

30. Chaves N, Santiago A, Alías JC. Quantification of the antioxidant activity of plant extracts: Analysis of sensitivity and hierarchization based on the method used. Antioxidants. 2020;9(1):76. http://doi.org/10.3390/antiox9010076

31. Oleinik G, Dario PP, de Morais Gasperin K, Benvegnú DM, Lima FO, Soares LC, *et al.* In vitro antioxidant extracts evaluation from the residue of the *Hevea brasiliensis* seed. Scientific Reports. 2022;12:480. http://doi.org/10.1038/s41598-021-04017-w

32. Coulombier N, Jauffrais T. Lebouvier N. Antioxidant compounds from microalgae: A review. Marine Drugs. 2021; 19(10):549. https://doi.org/10.3390/md19100549

33. Duarte TL, Lunec J. Review: When is an antioxidant not an antioxidant? A review of novel actions and reactions of vitamin C. Free Radical Research. 2005;39(7):671–686. https://doi.org/10.1080/10715760500104025

34. Sharma P, Jha AB, Dubey RS, Pessarakli M. Reactive oxygen species, oxidative damage, and antioxidative defense mechanism in plants under stressful conditions. Journal of Botany. 2012;2012:21703. https://doi.org/10.1155/2012/217037

35. Richards SL, Wilkins KA, Swarbreck SM, Anderson AA, Habib N, Smith AG, *et al.* The hydroxyl radical in plants: From seed to seed. Journal of Experimental Botany. 2015;66(1):37–46. https://doi.org/10.1093/jxb/eru398

36. Druzhinina AS. Phlorotannins in Arctic brown algae. Cand. Sci. Chem. diss. Arkhangelsk: Northern (Arctic) Federal University named after M.V. Lomonosov; 2019. 120 p. (In Russ.). [Дружинина А. С. Флоротаннины арктических бурых водорослей: дис. … канд. хим. наук. Архангельск, 2019. 120 с.].

37. Shinkarev CM, Samujlenko AI, Grin SA, Neminuschiy LA, Skotnikova TA, Pavlenko IV, *et al.* Prospects for the development of microalgae production technology. Bulletin of the Technological University. 2017;20(14):146–149. (In Russ.). [Перспектива развития технологии производства микроводорослей / С. М. Шинкарев [и др.] // Вестник технологического университета. 2017. Т. 20. № 14. С. 146–149.]. https://www.elibrary.ru/WQMOEQ

38. Hasanova SR, Plehanova TI, Gashimova DT, Galiahmetova EH, Klysh EA. Comparative reseach of antioxydant activity vegetative gathering. Proceedings of Voronezh State University. Series: Chemistry. Biology. Pharmacy. 2007;(1):163–166. (In Russ.). [Сравнительное изучение антиоксидантной активности растительных сборов / С. Р. Хасанова [и др.] // Вестник Воронежского государственного университета. Серия: Химия. Биология. Фармация. 2007. № 1. С. 163–166.]. https://www.elibrary.ru/KWHQXL

39. Marques AEML, Balen RE, da Silva Pereira Fernandes L, Motta CM, de Assis HCS, Taher DM, *et al.* Diets containing residual microalgae biomass protect fishes against oxidative stress and DNA damage. Journal of Applied Phycology. 2019;31:2933–2940. https://doi.org/10.1007/s10811-019-01825-6

40. Ranga Rao A, Raghunath Reddy RL, Baskaran V, Sarada R, Ravishankar GA. Characterization of microalgal carotenoids by mass spectrometry and their bioavailability and antioxidant properties elucidated in rat model. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 2010;58(15):8553–8559. https://doi.org/10.1021/jf101187k

41. Rahman NA, Khatoon H, Yusuf N, Banerjee S, Haris NA, Lananan F, *et al. Tetraselmis chuii* biomass as a potential feed additive to improve survival and oxidative stress status of Pacific white-leg shrimp *Litopenaeus vannamei* postlarvae. International Aquatic Research. 2017;9:235–247. https://doi.org/10.1007/s40071-017-0173-2

42. McKenzie CH, Bates SS, Martin JL, Haigh N, Howland KL, Lewis NI, *et al.* Three decades of Canadian marine harmful algal events: Phytoplankton and phycotoxins of concern to human and ecosystem health. Harmful Algae. 2021;102:101852. https://doi.org/10.1016/j.hal.2020.101852

ISSN 2074-9414 (Print)
ISSN 2313-1748 (Online)

https://doi.org/10.21603/2074-9414-2024-2-2502
https://elibrary.ru/VWVPWF

Оригинальная статья
https://fptt.ru

Ферменты биомассы мицелия грибов *Cordyceps militaris* и *Lentinula edodes* в технологии хлеба

Д. В. Минаков[1], С. И. Конева[2], Е. Ю. Егорова[2,*]

[1] *Алтайский государственный университет, Барнаул, Россия*

[2] *Алтайский государственный технический университет им. И. И. Ползунова, Барнаул, Россия*

Поступила в редакцию: 28.08.2023
Принята после рецензирования: 26.09.2023
Принята к публикации: 03.10.2023

**Е. Ю. Егорова: egorovaeyu@mail.ru, https://orcid.org/0000-0002-4990-943X*
Д. В. Минаков: https://orcid.org/0000-0002-4286-7783
С. И. Конева: https://orcid.org/0000-0002-6727-5979

© Д. В. Минаков, С. И. Конева, Е. Ю. Егорова, 2024

Аннотация.
Грибы видов *Cordyceps militaris* и *Lentinula edodes* известны своей внеклеточной протеолитической, амилолитической и лакказной активностями, важными для хлебопечения. Цель работы заключалась в исследовании влияния ферментов грибов *C. militaris* и *L. edodes* на характеристики мучных смесей, связанные с активностью ферментов амилолитического и протеолитического действия, а также на качество и выход выпеченных мучных изделий.
Объектами исследования выступили штаммы грибов *C. militaris* SRG4 и *L. edodes* 3790; порошок биомассы мицелия грибов на стерильном зерновом субстрате (рис и пшеница); смеси пшеничной хлебопекарной муки с порошком биомассы мицелия грибов; образцы хлеба из экспериментальных мучных смесей. Использовали стандартные и отраслевые методы контроля сырья и продукции хлебопекарного производства.
Установили, что биомассу мицелия грибов *C. militaris* и *L. edodes* можно рассматривать как дополнительный хлебопекарный ингредиент благодаря наличию ферментов гидролитического действия, содержанию белка (32,2 ± 1,5 и 26,4 ± 2,0 % соответственно), специфичных полисахаридов (36,7 ± 0,8 и 52,2 ± 1,2 % соответственно) и каротиноидов (1600 ± 40 мкг/г биомассы *C. militaris*). Наличие в мицелии грибов активных амилаз и протеиназ обеспечило повышение сахарообразующей способности, снижение числа падения мучных смесей и увеличение количества отмываемой клейковины при уменьшении упругости, а также приемлемые структуру и вязкость теста при добавлении 1–4 % порошка биомассы мицелия. Выпечка изделий с такой дозировкой обеспечила получение хлеба стандартного качества. С увеличением дозировки отметили потемнение мякиша и повышение его влажности, снижение удельного объема; у изделий с *C. militaris* выявили нарастание кислотности.
Полученные результаты подтверждают возможность использования в условиях хлебопекарного производства биомассы мицелия грибов *C. militaris* и *L. edodes* (в качестве источника ферментов) вместе с зерновым субстратом. Определение оптимальной дозировки и режимов ведения технологического процесса требуют дополнительных исследований.

Ключевые слова. Биотехнология, аскомицеты, базидиомицеты, *Cordyceps militaris*, *Lentinula edodes*, активность ферментов, хлеб, тесто, сахаробразующая способность, клейковина, качество

Для цитирования: Минаков Д. В., Конева С. И., Егорова Е. Ю. Ферменты биомассы мицелия грибов *Cordyceps militaris* и *Lentinula edodes* в технологии хлеба // Техника и технология пищевых производств. 2024. Т. 54. № 2. С. 222–235. https://doi.org/10.21603/2074-9414-2024-2-2502

https://doi.org/10.21603/2074-9414-2024-2-2502
https://elibrary.ru/VWVPWF

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

Mycelial Biomass Enzymes of *Cordyceps militaris* and *Lentinula edodes* in Baking Technology

Denis V. Minakov[1], Svetlana I. Koneva[2], Elena Yu. Egorova[2,*]

[1] *Altai State University, Barnaul, Russia*

[2] *Polzunov Altai State Technical University, Barnaul, Russia*

Received: 28.08.2023
Revised: 26.09.2023
Accepted: 03.10.2023

**Elena Yu. Egorova: egorovaeyu@mail.ru, https://orcid.org/0000-0002-4990-943X*
Denis V. Minakov: https://orcid.org/0000-0002-4286-7783
Svetlana I. Koneva: https://orcid.org/0000-0002-6727-5979

© D.V. Minakov, S.I. Koneva, E.Yu. Egorova, 2024

Abstract.
Cordyceps militaris and *Lentinula edodes* are known for their high extracellular proteolytic, amylolytic, and laccase activity, which is important for bakery production. This article describes the effect of enzymes obtained from mycelial biomass of *C. militaris* and *L. edodes* on such properties of flour mixes as amylolytic and proteolytic enzymic activity during baking, technological costs, and bread quality.

The research featured strains of *C. militaris* SRG4 and *L. edodes* 3790 fungi; mycelial biomass powder of these fungi on a sterile grain substrate (rice, wheat); experimental flour mixes of wheat bread and first-grade baking flour with mycelial biomass powder; bread made from the experimental flour mixes. The experimental part included standard methods used in the bakery industry.

The mycelial biomass of *C. militaris* and *L. edodes* fungi proved to be a promising baking additive because it possessed hydrolytic enzymes and was rich in protein substances (32.2 ± 1.5 and 26.4 ± 2.0%, respectively), specific mushroom polysaccharides (36.7 ± 0.8 and 52.2 ± 1.2%, respectively), and carotenoids (1600 ± 40 mcg/g of *C. militaris* biomass). The active amylases and proteinases in the mycelial biomass powder improved the sugar-forming ability and reduced the falling number. In addition, they raised the amount of washed gluten with a slight decrease in elasticity, as well as provided an acceptable structure and viscosity of the dough at 1–4% of mycelial biomass powder. This dose resulted in an optimal bread formulation of standard quality. A bigger amount caused the crumb to darken and increased its humidity while reducing the specific volume. The bread samples with *C. militaris* were too acid.

Mycelial biomass of *C. militaris* and *L. edodes* proved to be a good source of enzymes to be used with grain substrates in bakery production. Further research is needed to define the optimal dose and processing modes.

Keywords. Biotechnologies, ascomycetes, basidiomycetes, *Cordyceps militaris*, *Lentinula edode*s, enzyme activity, bread, dough, sugar-forming ability, gluten, quality

For citation: Minakov DV, Koneva SI, Egorova EYu. Mycelial Biomass Enzymes of *Cordyceps militaris* and *Lentinula edodes* in Baking Technology. Food Processing: Techniques and Technology. 2024;54(2):222–235. (In Russ.). https://doi.org/10.21603/2074-9414-2024-2-2502

Введение

Высшие грибы отделов *Ascomycota* и *Basidiomycota* в различных сферах мирового промышленного производства используются не очень активно, найдя основное применение в кулинарии и производстве консервов, шире (с учетом перечня востребованных видов) – в производстве продукции фармацевтического назначения и технологиях биоконверсии [1–4]. Несмотря на то что многие из базидиомицетов продуцируют важные для различных биотехнологических процессов внеклеточные ферменты, относящиеся к классам оксидаз и гидролаз (карбогидразы, лакказы, амилазы и протеазы) и предназначенные для окисления, деполимеризации и более глубокого расщепления компонентов субстрата во время культивирования, в 80 % примеров используются плодовые тела, в 15 % случаев в ход идут экстракты из биомассы мицелия. Примеры целевой переработки субстрата или культуральной жидкости после выращивания грибов единичны [2, 5–7]. В процессе культивирования мицелий грибов выделяет в субстрат не только ферменты, но и специфичные биологически активные метаболиты – стерины, органические кислоты и др., которые представляют интерес для пищевой промышленности [4, 8].

Определенную ценность для переработки могут иметь сами компоненты питательной среды. Например, введенные витамины [9].

Основные углеводные составляющие субстратов, применяемых для культивирования высших грибов в промышленном масштабе, – это увлажненные древесина или древесные опилки, солома злаковых, лузга масличных и лигноцеллюлозные шроты растительного сырья. Наиболее эффективными считаются низколигнифицированные субстраты [4, 10]. При коммерческом производстве кордицепса военного (*Cordyceps militaris*) в качестве субстрата для культивирования используются зерна злаков – пшеницы, риса, кукурузы и проса, а также кукурузные початки [11]. Состав субстрата значительно влияет не только на продуктивность (урожай плодовых тел грибов), но и на состав и выход биологически активных веществ и синтез мицелием специфичных ароматических компонентов [12–14].

В период роста мицелия выделяют две фазы накопления ферментов. Первая фаза сопровождается активным синтезом преимущественно карбогидраз, необходимых для деполимеризации полисахаридов субстрата. Эта фаза продолжается от 1 до 3 недель роста мицелия. Вторая фаза начинается ко времени формирования плодовых тел грибов. Для каждого биологического вида характерен свой временной интервал второй фазы. В этот период гриб вырабатывает ферменты более широкого и специфичного перечня, необходимые как для дальнейшего расщепления субстрата, так и для синтеза-преобразования биохимических компонентов, входящих в состав самого мицелия и плодовых тел [4, 6]. Для шиитаке (*Lentinula edodes*) на ранних стадиях адаптации к субстрату характерна пониженная активность гидролитических ферментов. Активная фаза выработки ферментов наблюдается примерно через 7 суток от начала выращивавания и замедляется с началом снижения метаболической активности мицелия, которое соответствует завершению процесса образования плодовых тел [10]. Более высокая активность гидролитических ферментов – амилазы, пектиназы, ферментов деградации клеточной стенки грибов (β-1,3-глюканазы, β-1,6-глюканазы и хитиназы) и лакказ – выявлена в глубинной части субстрата после его полной колонизации мицелием шиитаке, т. е. на 10–25 сутки в зависимости от состава субстрата [15–17].

Вид *C. militaris* менее требователен к составу субстрата. Его мицелий полностью колонизирует субстрат на 4–7 сутки с момента посева. Высокое содержание в зернах злаков крахмала, как и наличие белка, способствует более интенсивному и эффективному росту мицелия и образованию стром – плодовых тел [11]. Для грибов рода *Cordyceps* характерна высокая внеклеточная амилолитическая активность – «мгновенная», проявляющаяся с момента посева мицелия. У видов *C. militaris* и *L. edodes* обнаружена высокая внеклеточная протеолитическая активность, проявляющаяся уже на 4–7-е сутки развития мицелия. Интенсивная продукция внеклеточных протеиназ мицелием *C. militaris* объясняется активным участием этих ферментов в патогенезе насекомых – одном из основных природных субстратов для этого гриба [18]. *L. edodes* относится также к продуцентам амилаз и наиболее активным продуцентам лакказ (в том числе во внеклеточной среде) и тирозиназ [6, 7, 13, 15–17]. Особенность ферментных комплексов грибов родов *Cordyceps* и *Lentinula* – наличие высокоактивных гидролаз (амилаз и пептидаз) и широко используемых в пищевых биотехнологиях лакказ [19–21] – обуславливает целесообразность исследований возможного влияния ферментов грибного мицелия на активность ферментативных процессов, которые определяют качество продукции в условиях хлебопекарного производства.

К настоящему времени в направлении исследований по использованию высших грибов в хлебопечении имеются некоторые наработки. Есть информация о взаимосвязи стабильности теста с биохимическим составом высших грибов, что связывается с наличием в мицелии специфичных пищевых волокон – бета-глюканов и ферментов протеолитического действия [22–27]. Именно с химическим составом грибов и активностью ферментов связывается снижение стабильности, водопоглощения и модуля упругости пшеничного теста, скорости желатинизации и ретроградации крахмала при введении измельченной сухой, не стерилизованной биомассы высших грибов [28, 29]. В условиях хлебопекарного производства использование рассматриваемых подклассов ферментов как технологических добавок-улучшителей целесообразно при необходимости работы с мукой с пониженной ферментативной активностью. Хлеб с добавлением биомассы грибного мицелия отличается более выраженной интенсивностью вкуса и аромата, обеспеченной внесением с мицелием грибного эрготионина и γ-аминомасляной кислоты, и имеет более интенсивный цвет корок и мякиша, обусловленный ароматическими аминокислотами и полифенолами грибов [30–33].

Обзор научной литературы выявил дефицит информации об использовании в пищевых биотехнологиях ферментов высших грибов и совместном применении ферментов грибной биомассы с субстратом без предварительного выделения, поскольку процесс выделения и очистки ферментов из биомассы высших грибов отличается сложностью или невозможностью реализации [2, 7, 34]. Нет информации о взаимосвязи качества выпеченного хлеба и применения биомассы грибного мицелия вместе с субстратом. Выращенная в искусственных условиях чистая биомасса мицелия съедобных высших грибов не имеет ограничений к использованию в хлебопекарном производстве по микробиологическим и гигиеническим показателям безопасности. Таким же образом можно рассматривать возможность использования субстрата в случаях, когда в этом качестве используется зерно продовольственного качества.

Целью работы стало исследование влияния ферментов биомассы мицелия грибов *C. militaris* и *L. edodes* на активность основных ферментативных процессов в мучных смесях и качество хлеба. Оба вида грибов относятся к съедобным, они успешно культивируются и отличаются не только активной выработкой внеклеточных ферментов, но и синтезом веществ с подтвержденными антиоксидантными свойствами – полифенолов, каротиноидов, эрготанина и др.

Объекты и методы исследования

Объектами исследований на разных этапах работы выступали (рис. 1):

– штаммы грибов *Cordyceps militaris* SRG4 и *Lentinula edodes* 3790 из коллекции кафедры органической химии Алтайского государственного университета;

– порошок биомассы мицелия грибов *C. militaris*, выращенной на зерне красного и бурого риса; дисперсность порошка 0,02–0,10 мм;

– порошок биомассы мицелия грибов *L. edodes*, выращенной на зерне мягкой пшеницы; дисперсность порошка 0,02–0,10 мм;

– экспериментальные мучные смеси на основе муки пшеничной хлебопекарной первого сорта ТМ «Алейка» с добавлением порошка биомассы мицелия грибов *C. militaris* (в дозировке 0–5 % по массе) и *L. edodes* (в дозировке 0–7 % по массе). Количество порошка биомассы мицелия грибов в мучных смесях ограничено с учетом литературных данных о влиянии биомассы некоторых высших грибов на свойства теста и качество мучной продукции, в том числе из-за возможности чрезмерного нарушения структуры клейковины [24, 25, 35];

– образцы хлеба, полученные из экспериментальных мучных смесей.

Посевной мицелий выращивали в стерильной жидкой питательной среде, которая состояла из неохмеленного пшеничного солодового экстракта и дистиллированной воды в соотношении 1:20. Продолжительность культивирования мицелия на зерновом субстрате для каждого вида грибов выбрана с учетом литературных данных о взаимосвязи продолжительности культивирования и активности выработки мицелием внеклеточных ферментов.

Биомассу мицелия нарабатывали методом твердофазного культивирования на зерновой среде в стеклобанках объемом 1 дм^3, оснащенных крышками из полипропилена со фторопластовым фильтром МФФК-1Г (размер пор 0,22 мкм) и инокуляционным портом из резиновой пробки. Зерновой субстрат для культивирования мицелия *C. militaris* готовили следующим образом: 60 г красного или бурого риса (в расчете на банку вместимостью 1 дм^3) промывали водопроводной водой до прозрачных промывных вод. Затем рис отваривали в течение 10 мин при температуре 80 °С и отделяли от остатков воды фильтрованием через сито с последующей естественной сушкой на воздухе. Готовый рис распределяли по банкам, закрывали полипропиленовыми крышками и стерилизовали в автоклаве ВК-75 при 0,07 МПа в течение 45 мин. После остывания банок до температуры 25 ± 1 °С производили засев зерновой среды жидким мицелием.

Культивирование мицелия *C. militaris* осуществляли в термостате при температуре 26 °С в течение 7 суток до полного зарастания зернового субстрата мицелием. После этого мицелий переносили в климатическую камеру, оснащенную кондиционером для поддержания температуры 16 °С и люминисцентными лампами (Philips TL-D 36W/54-765) освещенностью 1000 лк (12 ч в сутки, автоматический электронный таймер IP20 EL-03 Robiton). Процесс культивирования прекращали на 55-е сутки после изменения цвета мицелия с белого на ярко-оранжевый и образования ярко-оранжевых стром (плодовых тел).

В качестве зернового субстрата для культивирования мицелия *L. edodes* использовали мягкую пшеницу, отваренную на медленном огне до состояния размягченных неразрушенных зерен с последующим смешиванием (из расчета на банку объемом 1 дм^3) 250 г отваренного зерна с 0,75 г гипса ($CaSO_4 \times 2H_2O$) и 3 г пищевого мела ($CaCO_3$). Субстрат распределяли по банкам и



a b c

Рисунок 1. Порошок биомассы мицелия грибов: a – *Cordyceps militaris*, выращенной на субстрате из зерна бурого риса; b – *Cordyceps militaris*, выращенной на субстрате из зерна красного риса; c – *Lentinula edodes*, выращенной на субстрате из зерна пшеницы

Figure 1. Biomass powder of mushroom mycelium grown on different substrates: a – *Cordyceps militaris* grown on brown rice; b – *Cordyceps militaris* grown on red rice; c – *Lentinula edodes* grown on wheat

стерилизовали в автоклаве ВК-75 при 0,1 МПа в течение 60 мин. После остывания банок до температуры 25 ± 1 °С производили засев зерновой среды жидким мицелием. Культивирование мицелия *L. edodes* вели в термостате при температуре 26 °С в темноте в течение 20 суток до полного зарастания зернового субстрата мицелием гриба.

После культивирования биомассу мицелия используемых штаммов грибов высушивали в течение 24 ч в лабораторном сушильном шкафу (ES-4620 Экрос) при 40 °С. Для получения порошка высушенный мицелий измельчали на кофемолке (Bosch TSM 6A013B) до размера частиц 0,02–0,10 мм. Субстрат (зерно риса, пшеницы) не отделяли от мицелия перед измельчением.

Определение количества белка в измельченной сухой биомассе мицелия проводили колориметрически по методу Брэдфорда; количественное содержание полисахаридов – спектрофотометрическим методом с пикриновой кислотой; определение суммы каротиноидов – спектрофотометрическим методом, описанным в [36]; массовую долю «свободных» липидов – экстракционно-весовым методом с экстракцией в аппарате Сокслета. Влажность порошка биомассы мицелия грибов устанавливали по ГОСТ 13586.5-2015, зольность – по ГОСТ 10847-2019.

Исследование влияния биомассы мицелия грибов на сахаробразующую способность (свойство, отображающее активность ферментов амилолитического действия), число падения (суммарная активность ферментов) и изменение свойств клейковинного комплекса (влияние протеолитических ферментов грибного мицелия) изучали по принятым в хлебопекарной отрасли методикам. При изучении углеводно-амилазного комплекса мучных смесей использовали методику, изложенную в ГОСТ 27676-88 и основанную на определении времени свободного падения шток-мешалки в клейстеризованной водно-мучной суспензии. Сахаробразующую способность мучных смесей, характеризующую возможность образовывать резерв остаточных сахаров, необходимых для обеспечения процесса расстойки и получения хлеба нормального качества, рассчитывали по количеству мальтозы (мг), образующейся из 10 г муки за 1 ч настаивания с 50 см^3 воды при температуре 27 °С. Состояние белково-протеиназного комплекса мучных смесей оценивали по количеству и качеству сырой клейковины. Клейковину отмывали ручным способом по ГОСТ 27839-2013. Качество клейковины оценивали путем измерения ее упруго-эластичных свойств на приборе ИДК-1М.

Замес теста осуществляли в тестомесилке лабораторной тестомесильной машины У1-ЕТВ. В качестве базовой рецептуры использовали унифицированную рецептуру хлеба из пшеничной муки первого сорта [37]. Контрольные образцы хлеба выпекали без внесения порошка мицелия высших грибов. Тестовые заготовки формовали ручным способом. Выпечку хлеба проводили в лабораторной хлебопекарной печи конвекционного типа UNOX XB 693 (UNOX, Италия) при температуре 200 °С в течение 30–35 мин. Основные технологические параметры процесса приготовления хлеба с добавлением и без добавления порошка мицелия (продолжительность замеса, температуру и продолжительность выпечки) не меняли.

Определение органолептических показателей выпеченных образцов проводили по методикам ГОСТ 5667-2022. Влажность мякиша хлеба анализировали по ГОСТ 21094-2022, его кислотность – по ГОСТ 5670-96, пористость – по ГОСТ 5669-96, удельный объем хлеба – по ГОСТ 27669-88.

Расчет основных технологических затрат и выхода хлеба осуществляли по методикам, принятым в хлебопекарной отрасли.

Все исследования реализовали в 3-кратной повторности. Результаты обработали с использованием программного приложения Microsoft Office Excel.

Результаты и их обсуждение

Биохимический состав биомассы мицелия грибов. В таблице 1 приведены результаты лабораторных исследований, которые характеризуют содержание значимых компонентов химического состава в биомассе мицелия грибов *Cordyceps militaris* и *Lentinula edodes*, выращенных на зерновых субстратах из бурого риса и мягкой пшеницы соответственно.

Таблица 1. Химический состав биомассы мицелия грибов *Cordyceps militaris* и *Lentinula edodes*, выращенной на зерновых субстратах

Table 1. Chemical composition of mycelial biomass of *Cordyceps militaris* and *Lentinula edodes* grown on grain substrates

Компоненты	Содержание компонента в биомассе мицелия грибов	
	Cordyceps militaris	*Lentinula edodes*
Вода, %	13,5 ± 1,2	13,2 ± 1,0
Белок, %	32,2 ± 1,5	26,4 ± 2,0
Липиды, %	1,6 ± 0,2	1,8 ± 0,2
Полисахариды, %	36,7 ± 0,8	52,2 ± 1,2
Моно- и дисахариды, %	9,8 ± 0,6	6,1 ± 0,5
Зола, %	5,6 ± 0,2	3,2 ± 0,2
Сумма каротиноидов, мкг/г	1600 ± 40	–

Согласно результатам биохимического анализа для исследуемого порошка биомассы мицелия *C. militaris* характерно более высокое содержание белковых веществ (32,2 % против 26,4 % в мицелии *L. edodes*), что коррелирует с литературными данными (до 36–39 и 26–28 % соответственно). Белки *C. militaris* и *L. edodes* характеризуются повышенным содержанием лизина [38, 39], что важно при оценке влияния грибных белков на усвояемость лимитированных по лизину белков пшеничной муки и готовых мучных изделий. В мицелии культивируемых грибов накапливается больше ароматических аминокислот, чем у выросших в природных условиях [40]. Это может иметь значение при формировании окраски корочки хлеба.

Содержание суммы полисахаридов в мицелии *C. militaris* и *L. edodes* составило 36,7 и 52,2 % соответственно. Высокое содержание полисахаридов в исследуемых порошках биомассы грибов отчасти обусловлено высоким исходным содержанием крахмала в зерновых субстратах (зерна риса и пшеницы), не гидролизуемым полностью внеклеточными ферментами, выделяемыми мицелием грибов. При этом низкое содержание белка в рисе не способствует активному накоплению в мицелии *C. militaris* специфичного биологически активного компонента кордицепина [41]. Для его синтеза необходимо наличие в субстрате достаточных количеств белкового азота и олеиновой кислоты, а также более высокая температура культивирования [42, 43]. Безопасность этого вещества при потреблении в пищу животными и человеком доказана [44–46]. Однако в нашем эксперименте значимые концентрации кордицепина в биомассе мицелия *C. militaris* не нужны, поскольку они могут влиять на дрожжевые клетки при созревании теста и исказить результаты лабораторной выпечки [47].

Исследуемые виды грибов характеризуются пониженной способностью к синтезу основных классов липидов. Однако биологическая ценность извлекаемых липидов обусловлена наличием значимых количеств линолевой и линоленовой кислот, каротиноидов и стеринов [48–50]. По данным лабораторного анализа, содержание общих липидов в биомассе мицелия грибов *C. militaris* и *L. edodes* составило 1,6 и 1,8 % соответственно. В биомассе мицелия *C. militaris* установлено высокое содержание каротиноидов – 1600 мкг/г, в то время как в биомассе мицелия *L. edodes* их не выявлено. Это можно объяснить как спецификой принятых условий культивирования, так и принадлежностью используемых видов грибов к разным систематическим отделам. Известно, что в условиях освещенности мицелий разных штаммов грибов *C. militaris* способен синтезировать от 600–1200 до 3700–6600 мкг каротиноидов на 1 г сухой биомассы, включая специфичные водорастворимые ксантофиллы; в плодовых телах современных гибридных штаммов *C. militaris* – до 13 мг/г и более [51–54]. Для мицелия *L. edodes* к наиболее предпочтительным условиям твердофазного культивирования относится отсутствие света [55], чем можно объяснить неспособность мицелия этого гриба накапливать каротиноиды, синтезирующиеся у *L. edodes* только в плодовых телах и в менее значимых количествах.

Сумма минеральных веществ в составе мицелия грибов *C. militaris* и *L. edodes* составила 5,6 и 3,2 % соответственно. При выращивании мицелия обоих видов грибов компоненты субстрата были утилизированы в значительной степени, именно об этом свидетельствуют приведенные в таблице 1 данные биохимического анализа мицелиальной биомассы грибов с субстратом и их сопоставление с ранее опубликованными данными о биохимическом составе мицелия некоторых штаммов этих видов грибов, выращенных в искусственных условиях [38, 39, 48, 49].

С учетом полученных данных о биохимическом составе выращенный на зерновом субстрате мицелий грибов *C. militaris* и *L. edodes* представляет собой ценность в качестве дополнительного ингредиента для хлебопекарного производства.

Влияние биомассы мицелия грибов на активность ферментативных процессов в мучных смесях. При введении в тесто измельченного воздушно-сухого мицелия грибов *C. militaris* и *L. edodes* пищевая ценность мучных изделий повышается по таким показателям, как содержание общего белка, минеральных веществ, полифенольных веществ и некоторых витаминов [31, 35]. Внесение любых высших грибов в тесто составляет не более 3–7 %, что связано либо с существенным ухудшением технологических свойств муки и теста, либо с неприемлемым изменением органолептических свойств выпечки, либо по обеим из указанных причин [24, 25, 35].

В нашем случае введение в пшеничное тесто порошка биомассы мицелия грибов *C. militaris* и *L. edodes*, ферментные комплексы которых отличаются наличием высокоактивных гидролаз, по всем вариантам дозировки способствовало интенсификации гидролиза полисахаридов. Об этом свидетельствуют значения сахарообразующей способности и числа падения, соответственно, возрастающие или снижающиеся с увеличением дозировки порошка биомассы мицелия грибов (табл. 2). Обнаруженную закономерность можно объяснить тем, что при одновременном воздействии амилаз муки и порошка мицелия грибов на частично деполимеризованный крахмал муки накопление мальтозы происходит более активно и может отразиться на скорости брожения теста, поскольку при созревании теста именно продукты гидролиза мальтозы служат субстратом для дрожжевых клеток.

Известно, что использование в качестве субстрата высококрахмалистого сырья сопровождается значительным снижением протеолитической активности *C. militaris* [18]. Однако этим можно объяснить усиленную выработку ферментов амилолитического действия при культивировании мицелия данного гриба

Таблица 2. Влияние порошка *Cordyceps militaris* и *Lentinula edodes* на сахаробразующую способность и клейковину мучной смеси

Table 2. Effect of *Cordyceps militaris* and *Lentinula edodes* powders on sugar-forming ability and gluten content of flour mixes

Наименование показателя	Значение показателя при дозировке грибного порошка, %													
	Cordyceps militaris (субстрат – бурый рис)						*Lentinula edodes* (субстрат – мягкая пшеница)							
	0	1	2	3	4	5	0	1	2	3	4	5	6	7
Сахарообразующая способность, мг мальтозы на 10 г муки	135	189	207	225	279	378	135	144	180	189	186	215	230	252
Число падения, с	310	304	298	286	265	260	310	310	300	302	296	290	289	280
Количество клейковины, %	30,0	30,0	31,0	31,0	32,0	32,0	30,0	30,0	31,0	31,0	31,0	31,0	31,0	32,0
Качество клейковины, ед. ИДК	60	65	65	75	80	80	60	60	65	72	75	75	75	75

на зерновом субстрате. Активное гидролитическое воздействие ферментов мицелия грибов *C. militaris* и *L. edodes* на структуру крахмальных гранул муки подтверждается снижением значения числа падения мучных смесей от 310 на контроле (пшеничная хлебопекарная мука первого сорта) до 260–280 с.

Протеиназы внесенной в мучные смеси биомассы мицелия грибов *C. militaris* и *L. edodes* повлияли на белковую фракцию муки, вызвав активный протеолиз белковых веществ муки, дезагрегирующее действие которого нарушило пространственную структуру белка и изменило качество клейковины. Как следствие, отметили снижение упругости клейковины, обусловленное образованием продуктов денатурации белка: с 60 ед. ИДК на контроле до 75–80 ед. ИДК по вариантам внесения порошка биомассы мицелия грибов.

Выявленные эффекты можно объяснить присутствием в биомассе мицелия высших грибов и трипсиноподобных протеиназ и пептидаз, обеспечивающих частичный гидролиз клейковины и сопоставимых по проявляемой активности с протеолитическими ферментами низших грибов, обуславливающими изменение пространственной структуры клейковинного белка за счет изменения соотношения вторичных α-спиральных и β-листовых структур [18, 19, 56]. «Относительно слабо выраженные» гидролитические эффекты протеиназ грибов *C. militaris* и *L. edodes* можно объяснить условиями проведения анализа клейковины (18–20 °С), далекими от оптимальных, в частности для специфичных пептидаз *C. militaris*, активность которых максимально проявляется в диапазоне температур 35–55 °С [19]. Подобный эффект – частичный гидролиз белка, который сопровождается облегчением его расщепления и переваривания животными, – был выявлен при использовании мицелия *L. edodes* для ферментации горохового и рисового белка при подтвержденной безопасности потребления белка, ферментированного мицелием этого гриба, людьми [57, 58].

Влияние биомассы мицелия грибов на качество и выход хлеба. Используемая при проведении эксперимента пшеничная хлебопекарная мука (контроль) отличалась низкими значениями сахарообразующей способности (135 мг мальтозы на 10 г муки) и числа падения (310 с), что дало хлеб (контрольный образец) с бледноокрашенной корочкой. В результате этого возрастание значений сахаробразующей способности и снижение числа падения по вариантам внесения в тесто биомассы мицелия грибов обеспечило более активное протекание процессов созревания теста и расстойки тестовых заготовок, а также реакции меланоидинообразования в процессе выпечки. При смешивании пшеничной муки с порошком биомассы мицелия грибов в исследуемых дозировках влагоудерживающая способность клейковины закономерно увеличивалась, но тесто сохраняло приемлемые структуру и вязкость. Это говорит о сохранении нормальной клейковинной сетки теста.

Хлеб, выпеченный с добавлением 3–4 % порошка биомассы мицелия *C. militaris*, выращенной на субстратах из зерна красного и бурого риса (табл. 3–4), отличался хорошо развитой пористостью, ярко выраженными вкусом и ароматом, имел интенсивно окрашенную корочку. Это связано с более интенсивным накоплением в тесте свободных аминокислот – продуктов гидролиза пшеничного и грибного белка, которые являются пластическим материалом для бродильной микрофлоры и относятся к важным компонентам реакции меланоидинообразования. Полученные результаты согласуются с данными зарубежных авторов о более темном цвете корок и мякиша хлеба из пшеничной муки при введении в мучную смесь грибной биомассы [33]. Это связывается с наличием в грибах полифенольных соединений и более интенсивным протеканием реакций Майяра и карамелизации [33, 35].

Порошок биомассы мицелия грибов *C. militaris*, выращенной на субстратах из зерна красного риса, имел более яркий и насыщенный цвет, обусловленный как цветом самого риса, так и выработкой мицелием гриба специфичных пигментов из классов каротиноидов и полифенолов. Подтвержденное результатами биохимических исследований присутствие в мицелии данных пигментов и интенсивное накопление в тесте выделяемых самим мицелием свободных ароматических аминокислот (тирозина), окисляющихся в

Таблица 3. Влияние биомассы мицелия *Cordyceps militaris*, выращенной на субстрате из зерна бурого риса, на качество хлеба и технологические затраты

Table 3. Effect of mycelial biomass of *Cordyceps militaris* grown on brown rice on bread quality and technological costs

Наименование показателя	Значение показателя при дозировке порошка биомассы мицелия грибов *Cordyceps militaris*				
	0 % (контроль)	1 %	2 %	3 %	4 %
Технологические затраты и выход хлеба					
Затраты на брожение, %	1,8	1,8	1,9	1,9	2,0
Затраты на упек, %	9,7	8,5	8,3	8,2	7,7
Затраты на усыхание, %	1,9	1,9	1,9	2,2	2,5
Выход хлеба, %	139,0	140,0	140,0	141,0	141,0
Физико-химические показатели					
Влажность мякиша, %	44,0	44,0	44,0	44,5	44,5
Кислотность мякиша, град.	2,5	2,5	2,5	3,0	3,5
Пористость мякиша, %	77,0	77,0	75,0	74,0	73,0
Удельный объем, $см^3/г$	2,5	2,3	2,3	2,2	2,1
Органолептические показатели					
Форма	Правильная, соответствует хлебной форме				
Поверхность	Ровная, без трещин и подрывов				Подрывы на поверхности
Корка	Ровная, тонкая				
Размер пор Равномерность распределения пор Толщина стенок пор	Поры средние Пористость равномерная Тонкостенная				
Состояние мякиша	Эластичный	Достаточно эластичный	Уплотненный		
Цвет мякиша	Светлый	Светлый	Более темный с сероватым оттенком		
Крошковатость	Не крошковатый				
Запах	Свойственный для пшеничного хлеба				Свойственный, с привкусом грибов
Вкус	Свойственный для пшеничного хлеба				Пшеничного хлеба

Таблица 4. Влияние биомассы мицелия *Cordyceps militaris*, выращенной на субстрате из зерна красного риса, на качество хлеба и технологические затраты

Table 4. Effect of mycelial biomass of *Cordyceps militaris* grown on red rice on bread quality and technological costs

Наименование показателя	Значение показателя при дозировке порошка биомассы мицелия грибов *Cordyceps militaris*				
	0 % (контроль)	1 %	2 %	3 %	4 %
Технологические затраты и выход хлеба					
Затраты на брожение, %	1,8	2,0	2,0	2,1	2,2
Затраты на упек, %	9,7	8,5	8,0	7,1	7,1
Затраты на усыхание, %	1,9	2,1	2,3	2,4	2,6
Выход хлеба, %	139,0	140,0	139,0	140,0	141,0
Физико-химические показатели					
Влажность мякиша, %	44,0	44,0	44,0	44,0	44,5
Кислотность мякиша, град.	2,5	2,5	3,0	3,0	3,0
Пористость мякиша, %	77,0	77,0	77,0	76,0	76,0
Удельный объем, $см^3/г$	2,5	2,4	2,4	2,3	2,3
Органолептические показатели					
Форма	Правильная, соответствует хлебной форме				
Поверхность	Ровная, без трещин и подрывов			Шероховатая, без трещин и подрывов	
Корка	Ровная, тонкая				
Размер пор Равномерность распределения пор Толщина стенок пор	Поры средние Пористость равномерная Тонкостенная				
Состояние мякиша	Эластичный				
Цвет мякиша	Светлый		С кремовым оттенком		С сероватым оттенком
Крошковатость	Не крошковатый				
Запах	Свойственный для пшеничного хлеба				Свойственный, с привкусом грибов
Вкус	Свойственный для пшеничного хлеба				Пшеничного хлеба



Рисунок 2. Внешний вид выпеченных изделий в разрезе: 1 – контроль; 2 – 2 % порошка *Cordyceps militaris*, выращенного на субстрате из зерна бурого риса; 3 – 4 % порошка *Cordyceps militaris*, выращенного на субстрате из зерна бурого риса; 4 – 2 % порошка *Cordyceps militaris*, выращенного на субстрате из зерна красного риса; 5 – 4 % порошка *Cordyceps militaris*, выращенного на субстрате из зерна красного риса; 6 – 2 % порошка *Lentinula edodes*; 7 – 4 % порошка *Lentinula edodes*

Figure 2. Cross-sections of bread: 1 – control; 2 – 2% *Cordyceps militaris* powder grown on brown rice; 3 – 4% *Cordyceps militaris* powder grown on brown rice; 4 – 2% *Cordyceps militaris* powder grown on red rice; 5 – 4% *Cordyceps militaris* powder grown on red rice; 6 – 2% *Lentinula edodes* powder; 7 – 4% *Lentinula edodes* powder

процессе тестоприготовления и вступающих в реакцию меланоидинообразования, привело к получению более насыщенных оттенков цвета мякиша, интенсивность которых усиливалась с увеличением дозировки порошка биомассы мицелия *C. militaris* (рис. 2) [40].

С дальнейшим увеличением дозировки порошка биомассы мицелия *C. militaris* (5 % и более) отмечено усиливающееся уплотнение мякиша и снижение его эластичности. Это можно связать с чрезмерным протеолизом белковых веществ и изменением их структуры и биохимических свойств (неограниченным набуханием, пептизацией, переходом в жидкую фазу теста), что сопровождалось уменьшением стабильности, консистенции и упругости теста, увеличением его разжижения и изменением органолептических и физико-химических показателей качества выпеченных изделий.

Пропорционально увеличению дозировки порошка биомассы мицелия *C. militaris* отмечено возрастание кислотности мякиша опытных образцов хлеба (с 2,5 до 3,0–3,5 град., табл. 3–4), обусловленное активизацией молочнокислого брожения на фоне повышенного образования простых сахаров.

Характеристика степени разрыхленности выпеченных изделий показывает, что добавление порошка биомассы мицелия *C. militaris* в дозировке 3–4 % привело к снижению значений пористости мякиша хлеба и удельного объема опытных образцов. Это согласуется с приведенной в научных работах информацией о том, что гидролитическое действие протеиназ высших грибов, при возможном сохранении приемлемой микроструктуры клейковинной сетки теста, отрицательно отражается на объеме, высоте, текстуре и внешнем виде хлеба [27]. Следовательно, несмотря на повышенную сахарообразующую способность экспериментальных мучных смесей и прогнозируемое на основании этого увеличение объема изделий, влияние гидролитических ферментов высших грибов при внесении в мучные смеси в дозировке свыше 1 % является основной причиной уменьшения объема хлеба при сохранении равномерной тонкостенной пористости их мякиша.

Применение порошка биомассы мицелия грибов *L. edodes*, выращенной на зерне мягкой пшеницы, демонстрировало менее значительное влияние на физико-химические показатели качества опытных образцов (табл. 5). В вариантах дозировки порошка мицелия, которые обеспечивают хорошие органолептические показатели (1–4 %, рис. 2), кислотность и пористость мякиша оставались на уровне значения контрольного варианта. Однако при этом также зафиксировано снижение удельного объема хлеба с 2,5 до 2,3 $см^3$/г. Кремовый оттенок мякиша образца с введением 4 % порошка биомассы мицелия обусловлен менее активным (по сравнению с биомассой мицелия *C. militaris*) продуцированием грибами *L. edodes* ароматических аминокислот, которые участвуют в реакции меланоидинообразования при выпечке мучной продукции [40].

Анализ влияния дозировки порошка биомассы мицелия на технологические затраты и выход хлеба показывает, что добавление порошка биомассы мицелия грибов *C. militaris* обусловило повышение затрат сухих веществ на брожение, характеризующихся расходованием сухих веществ муки (в пересчете на сахар) на спиртовое и молочнокислое брожение. Возрастание значений числа падения за счет наличия в мицелии гриба *C. militaris* высокоактивных гидролаз (амилаз и пептидаз) коррелирует с повышением бродильной активности дрожжей и молочнокислых бактерий на этапе брожения теста.

Таблица 5. Влияние биомассы мицелия *Lentinula edodes*, выращенной на субстрате из зерна пшеницы, на качество хлеба и технологические затраты

Table 5. Effect of *Lentinula edodes* mycelial biomass grown on wheat on bread quality and technological costs

Наименование показателя	Значение показателя при дозировке порошка биомассы мицелия грибов *Lentinula edodes*				
	0 % (контроль)	1 %	2 %	3 %	4 %
Технологические затраты и выход хлеба					
Затраты на брожение, %	1,8	1,8	1,7	1,8	1,8
Затраты на упек, %	9,7	9,7	9,8	10,0	10,2
Затраты на усыхание, %	1,9	1,9	1,8	1,8	1,7
Выход хлеба, %	139,0	141,0	141,0	140,0	140,0
Физико-химические показатели					
Влажность мякиша, %	44,0	44,2	44,5	44,5	44,5
Кислотность мякиша, град.	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5
Пористость мякиша, %	77,0	77,0	77,0	76,0	76,0
Удельный объем, $см^3/г$	2,5	2,5	2,4	2,3	2,3
Органолептические показатели					
Форма	Правильная, соответствует хлебной форме				
Поверхность	Ровная, без трещин и подрывов				
Корка	Ровная, тонкая			Ровная, утолщенная	
Размер пор Равномерность распределения пор Толщина стенок пор	Поры средние Достаточно равномерная Тонкостенная		Поры средние Достаточно равномерная Тонкостенная		
Состояние мякиша	Эластичный				
Цвет мякиша	Светлый			С кремовым оттенком	
Крошковатость	Не крошковатый				
Запах	Свойственный для пшеничного хлеба				Свойственный, с привкусом грибов
Вкус	Свойственный для пшеничного хлеба				Пшеничного хлеба

Более интенсивное брожение привело к активному расходованию сахаров, отраженному в показателе «Затраты на брожение». Наиболее значительно возросли затраты сухих веществ на брожение при внесении порошка биомассы мицелия грибов *C. militaris*, выращенной на субстрате из зерна красного риса (с 1,8 до 2,2 %).

Добавление порошка биомассы мицелия грибов *L. edodes* практически не влияет на затраты сухих веществ на брожение, что можно связать с незначительным влиянием ферментов этого гриба на сахарообразующую способность (рост при добавлении 4 % *C. militaris* со 135 до 279 мг мальтозы, при добавлении 4 % *L. dodes* со 135 до 205 мг мальтозы, табл. 2).

Затраты на упек при добавлении порошка биомассы мицелия грибов *C. militaris* уменьшались с 9,7 до 7,1–7,7 % за счет меньшего испарения влаги из опытных образцов и образования более тонкой корочки по сравнению с контрольным образцом. Опытные образцы с добавлением порошка биомассы мицелия грибов *L. edodes* отличались более толстой и плотной корочкой и более высоким упеком (рост до 10,2 % по сравнению с образцами на контроле). Таким образом, расчетное увеличение выхода хлеба на 1–2 % при добавлении порошка биомассы мицелия *C. militaris* обусловлено снижением затрат на упек, при добавлении порошка биомассы мицелия *L. edodes* – снижением затрат на усыхание.

Затраты на усыхание, обусловленные испарением части влаги и легколетучих компонентов в процессе остывания и последующего хранения хлеба, при внесении порошка биомассы мицелия грибов *C. militaris* возросли с 1,9 (контроль) до 2,5–2,6 %. Добавление *L. edodes* за счет более медленного испарения влаги через более плотную и толстую корочку снизило потери на усушку с 1,9 до 1,7 %.

Выводы

В условиях хлебопекарного производства использование биомассы мицелия высших грибов вместе с зерновым субстратом обеспечивает достижение результатов, сопоставимых с результатами применения чистой биомассы мицелия.

В составе мучных смесей гидролитические ферменты мицелия грибов *Cordyceps militaris* и *Lentinula edodes* обеспечивают повышение сахарообразующей способности и снижение числа падения, работают на увеличение количества отмываемой клейковины при незначительном снижении ее упругости. Отмеченные

изменения данных показателей находятся в прямой корреляции с количеством вводимого в мучные смеси порошка биомассы грибного мицелия.

При добавлении порошка биомассы мицелия в дозировке 1–5 % тесто сохраняло приемлемые структуру и вязкость, что говорит о сохранении в нем нормальной клейковинной сетки. Выпечка изделий, сформованных из теста с такой дозировкой порошка биомассы мицелия, обеспечила получение хлеба стандартного качества только в вариантах с дозировкой до 4 %. Изделия с добавлением порошка *L. edodes* в процессе выпечки формировали более плотную и толстую корку. Повышение дозировки порошка биомассы мицелия вызывало увеличение влажности мякиша, ухудшение структуры его пор, выраженное потемнение мякиша и появление несвойственных хлебу характерных привкуса и запаха грибов, что сложно считать приемлемыми качествами для продукции хлебопекарного производства.

Критерии авторства

Исследование было задумано, реализовано, проанализировано и описано авторами коллективно. Рукопись вычитана и принята в представленной версии как окончательной всеми авторами.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Contribution

The study was conceived, implemented, analyzed, and described by the authors collectively. All authors read and accepted the final manuscript.

Conflicts of interest

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

References/Список литературы

1. Arshadi N, Nouri H, Moghimi H. Increasing the production of the bioactive compounds in medicinal mushrooms: An omics perspective. Microbial Cell Factories. 2023;22:11. https://doi.org/10.1186/s12934-022-02013-x

2. Turlo J. The biotechnology of higher fungi – current state and perspectives. Acta Universitatis Lodziensis. Folia Biologica et Oecologica. 2014;10:49–65. https://doi.org/10.2478/fobio-2014-0010

3. Mayolo-Deloisa K, González-González M, Rito-Palomares M. Laccases in food industry: Bioprocessing, potential industrial and biotechnological applications. Frontiers in Bioengineering and Biotechnology. 2020;8:222. https://doi.org/10.3389/fbioe.2020.00222

4. Berger RG, Ersoy F. Improved foods using enzymes from basidiomycetes. Processes. 2022;10(4):726. https://doi.org/10.3390/pr10040726

5. Gannochka E, Kolesnikov B, Salamahina A, Shamtsyan M. Technology of obtaining milk-clotting enzyme from fungal culture *Funalia* sp. for application in cheese production. 13th Baltic Conference on Food Science and Technology "FOOD. NUTRITION. WELL-BEING"; 2019; Jelgava. Jelgava: LLU, Faculty of Food Technology; 2019. p. 247–249. https://doi.org/10.22616/FoodBalt.2019.036

6. Krupodorova T, Ivanova T, Barshteyn V. Screening of extracellular enzymatic activity of macrofungi. Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences. 2014;3(4):315–318.

7. Kumar Chandrawanshi N, Koreti D, Kosre A, Kumar A. Proteolytic enzymes derived from a macro fungus and their industrial application. In: Haider S, Haider A, Catalá A, Surguchov A, editors. Hydrolases. IntechOpen; 2022. https://doi.org/10.5772/intechopen.102385

8. Wang Q, Cao R, Zhang Y, Qi P, Wang L, Fang S. Biosynthesis and regulation of terpenoids from basidiomycetes: Exploration of new research. AMB Express. 2021;11:150. https://doi.org/10.1186/s13568-021-01304-7

9. Minakov DV, Sevodina KV, Shadrintseva AI, Sevodin VP. Influence of vitamins on growth and development of mycelium of some basidiomycetes in liquid medium. Food Processing: Techniques and Technology. 2016;43(4):43–49. (In Russ.). [Влияние витаминов на рост и развитие мицелия некоторых базидиомицетов в жидкой среде / Д. В. Минаков [и др.] // Техника и технология пищевых производств. 2016. Т. 43. № 4. С. 43–49.]. https://elibrary.ru/XELEIT

10. Mata G, Salmones D, Pérez-Merlo R. Hydrolytic enzyme activities in shiitake mushroom (*Lentinula edodes*) strains cultivated on coffee pulp. Revista Argentina de Microbiología. 2016;48(3):191–195. https://doi.org/10.1016/j.ram.2016.05.008

11. Lin Q, Long L, Wu L, Zhang F, Wu S, Zhang W, *et al.* Evaluation of different agricultural wastes for the production of fruiting bodies and bioactive compounds by medicinal mushroom *Cordyceps militaris*. Journal of the Science of Food and Agriculture. 2016;97(10):3476–3480. https://doi.org/10.1002/jsfa.8097

12. Usacheva RV. Physiological and biochemical characteristics of some strains of cultivated fungus Lentinus edodes (Berk. Sing.): Cand. sci. biol. dis. Voronezh: K.D. Glinka Voronezh State Agrarian University; 2003. 126 p. (In Russ.). [Усачева Р. В. Физиолого-биохимические особенности некоторых штаммов культивируемого гриба Lentinus edodes (Berk. Sing.): дис. … канд. биол. наук: 03.00.12. Воронеж, 2003. 126 с.].

13. Elkhateeb WA, El-Ghwas DE, Daba GM. Mushrooms as efficient enzymatic machinery. Journal of Biomedical Research. 2022;3(4):423–428. https://doi.org/10.37871/jbres1460

14. Li W, Chen W-C, Wang J-B, Feng J, Wu D, Zhang Z, *et al.* Effects of enzymatic reaction on the generation of key aroma volatiles in shiitake mushroom at different cultivation substrates. Food Science and Nutrition. 2021;9(4):2247–2256. https://doi.org/10.1002/fsn3.2198

15. Kobayashi N, Wada N, Yokoyama H, Tanaka Y, Suzuki T, Habu N, *et al.* Extracellular enzymes secreted in the mycelial block of *Lentinula edodes* during hyphal growth. AMB Express. 2023;13:36. https://doi.org/10.1186/s13568-023-01547-6

16. Baktemur G, Kara E, Yarar M, Yilmaz N, Ağcam E, Akyildiz A, *et al.* Yield, quality and enzyme activity of shiitake mushroom (*Lentinula edodes*) grown on different agricultural wastes. Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca. 2022;50(1):12553. https://doi.org/10.15835/nbha50112553

17. Sousa MAC, Costa LMAS, Pereira TS, Zied DC, Rinker DL, Dias ES. Enzyme activity and biochemical changes during production of *Lentinula edodes* (Berk.) Pegler. Food Science and Technology. 2019;39(3):774–780. https://doi.org/10.1590/fst.38517

18. Semenova TA, Belozersky MA, Belakova GA, Borisov BA, Semenova SA, Dunaevsky YaE. Secreted proteinase of entomopathogenic fungus *Cordyceps militaris*. I. Development of cultivation medium and of purification protocol. Mycology and Phytopathology. 2010;44(6):535–541. (In Russ.). [Секретируемая протеиназа энтомопатогенного гриба *Cordyceps militaris*. I. Подбор состава среды и разработка метода очистки / Т. А. Семенова [и др.] // Микология и фитопатология. 2010. Т. 44. № 6. С. 535–541.]. https://elibrary.ru/OITGBB

19. Semenova TA. Extracellular peptidases of fungi that form biotic connections with insects: Cand. sci. biol. dis. Moscow: Lomonosov Moscow State University; 2011. 130 p. [Семенова Т. А. Внеклеточные пептидазы грибов, образующих биотические связи с насекомыми: дис. … канд. биол. наук: 03.02.12, 03.01.04. М., 2011. 130 с.]. (In Russ.).

20. Shrestha B, Zhang W, Zhang Y, Liu X. The medicinal fungus *Cordyceps militaris*: Research and development. Mycological Progress. 2012;11:599–614. https://doi.org/10.1007/s11557-012-0825-y

21. Drozłowska-Sobieraj E. The use of enzymatic fungal activity in the food industry – Review. World Scientific News. 2019;116:222–229.

22. Frioui M, Gaceu L, Oprea O, Shamtsyan MM. The influence of fungal extract containing beta beta-glucans on the rheological characteristics of dough. Journal of International Academy of Refrigeration. 2018;(3):53–61. (In Russ.). https://doi.org/10.17586/1606-4313-2018-17-3-53-61

23. Chiozzi V, Eliopoulos C, Markou G, Arapoglou D, Agriopoulou S, El Enshasy HA, *et al.* Biotechnological addition of β-glucans from cereals, mushrooms and yeasts in foods and animal feed. Processes. 2021;9(11):1889. https://doi.org/10.3390/pr9111889

24. Nie Y, Zhang P, Deng C, Xu L, Yu M, Yang W, *et al.* Effects of *Pleurotus eryngii* (mushroom) powder and soluble polysaccharide addition on the rheological and microstructural properties of dough. Food Science and Nutrition. 2019;7(6):2113–2122. https://doi.org/10.1002/fsn3.1054

25. Kozubaeva LA, Kuzmina SS, Egorova EYu. Prospects for the use of dried Boletus edulis mushroom in the development of functional bakery products. News of KSTU named after I. Razzakov. 2021;60(4):189–195. (In Kyrgyz.). [Козубаева Л. А., Кузьмина С. С., Егорова Е. Ю. Перспективы использования сушеного гриба Boletus edulis при разработке функциональных хлебобулочных изделий // Известия Кыргызского государственного технического университета им. И. Раззакова. 2021. Т. 60. № 4. С. 189–195.]. https://elibrary.ru/WSNCZL

26. Minakov DV, Kozubaeva LA, Kuzmina SS, Egorova EYu. Features of dough maturation and bread quality formation with *Armillaria mellea* mycelium biomass. Storage and Processing of Farm Products. 2022;(1):145–156. (In Russ.). https://doi.org/10.36107/spfp.2022.297

27. Yuan B, Zhao L, Yang W, McClements DJ, Hu Q. Enrichment of bread with nutraceutical-rich mushrooms: Impact of *Auricularia auricula* (mushroom) flour upon quality attributes of wheat dough and bread. Journal of Food Science. 2017;82(9):2041–2050. https://doi.org/10.1111/1750-3841.13812

28. Zhang Y, Ruan C, Cheng Z, Zhou Y, Liang J. Mixolab behavior, quality attributes and antioxidant capacity of breads incorporated with *Agaricus bisporus*. Journal of Food Science and Technology. 2019;56:3921–3929. https://doi.org/10.1007/s13197-019-03859-7

29. Nikolić NC, Krasić MS, Šimurina O, Cakić S, Mitrović J, Pešić M, *et al.* Regression analysis in examination the rheology properties of dough from wheat and *Boletus edulis* flour. Journal of Food Composition and Analysis. 2022;115:105022. https://doi.org/10.1016/j.jfca.2022.105022

30. Ulziijargal E, Yang J-H, Lin L-Y, Chen C-P, Mau J-L. Quality of bread supplemented with mushroom mycelia. Food Chemistry. 2013;138(1):70–76. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.10.051

31. Salehi F. Characterization of different mushrooms powder and its application in bakery products: A review. International Journal of Food Properties. 2019;22(1):1375–1385. https://doi.org/10.1080/10942912.2019.1650765

32. Vlaic RA, Mureșan CC, Muste S, Muresan V, Pop A. *Boletus edulis* mushroom flour-based wheat bread as innovative fortified bakery product. Bulletin of University of Agricultural Sciences and Veterinary Medicine Cluj-Napoca. Food Science and Technology. 2019;76(1):52–62. https://doi.org/10.15835/buasvmcn-fst:2018.0022

33. Sławinska A, Sołowiej BG, Radzki W, Fornal E. Wheat bread supplemented with *Agaricus bisporus* powder: Effect on bioactive substances content and technological quality. Foods. 2022;11(23):3786. https://doi.org/10.3390/foods11233786

34. Bentil JA. Biocatalytic potential of basidiomycetes: Relevance, challenges and research interventions in industrial processes. Scientific African. 2021;11:e00717. https://doi.org/10.1016/j.sciaf.2021.e00717

35. Chen C, Han Y, Li S, Wang R, Tao C. Nutritional, antioxidant, and quality characteristics of novel cookies enriched with mushroom (*Cordyceps militaris*) flour. CyTA – Journal of Food. 2021;19(1):137–145. https://doi.org/10.1080/19476337.2020.1864021

36. Jiaojiao Z, Fen W, Kuanbo L, Qing L, Ying Y, Caihong D. Heat and light stresses affect metabolite production in the fruit body of the medicinal mushroom *Cordyceps militaris*. Applied Microbiology and Biotechnology. 2018;102:4523–4533. https://doi.org/10.1007/s00253-018-8899-3

37. State standard bakery formulations. Moscow; 1998. 87 p. (In Russ.). [Сборник рецептур на хлебобулочные изделия, вырабатываемые по государственным стандартам. М., 1998. 87 с.].

38. Chan JSL, Barseghyan GS, Asatiani MD, Wasser SP. Chemical composition and medicinal value of fruiting bodies and submerged cultured mycelia of caterpillar medicinal fungus *Cordyceps militaris* CBS-132098 (ascomycetes). International Journal of Medicinal Mushrooms. 2015;17(7):649–659. https://doi.org/10.1615/IntJMedMushrooms.v17.i7.50

39. Chaipoot S, Wiriyacharee P, Phongphisutthinant R, Buadoktoom S, Srisuwun A, Somjai C, *et al.* Changes in physicochemical characteristics and antioxidant activities of dried shiitake mushroom in dry-moist-heat aging process. Foods. 2023;12(14):2714. https://doi.org/10.3390/foods12142714

40. Wei X, Su Y, Hu H, Li X, Xu R, Liu Y. Quantification of aromatic amino acids in Cordyceps fungi by micellar electrokinetic capillary chromatography. Wuhan University Journal of Natural Sciences. 2019;24:245–250. https://doi.org/10.1007/s11859-019-1393-7

41. Turk A, Kim BS, Ko SM, Yeon SW, Ryu SH, Kim YG, *et al.* Optimization of cultivation and extraction conditions of pupae-*Cordyceps* for cordycepin production. Natural Product Sciences. 2021;27(3):187–192. https://doi.org/10.20307/nps.2021.27.3.187

42. Tao S-X, Xue D, Lu Z-H, Huang H-L. Effects of substrates on the production of fruiting bodies and the bioactive components by different *Cordyceps militaris* strains (ascomycetes). International Journal of Medicinal Mushrooms. 2020;22(1):55–63. https://doi.org/10.1615/IntJMedMushrooms.2019033257

43. Turk A, Abdelhamid MAA, Yeon SW, Ryu SH, Lee S, Ko SM, *et al. Cordyceps* mushroom with increased cordycepin content by the cultivation on edible insects. Frontiers in Microbiology. 2022;13:1017576. https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.1017576

44. Turk A, Kim MH, Jeong SY, Kim BS, Woo S-I, Lee MK. Quality and composition of eggs laid by hens fed with *Cordyceps militaris*-supplemented feed. Journal of Mushrooms. 2022;20(4):254–257. https://doi.org/10.14480/JM.2022.20.4.254

45. Elkhateeb WA, Daba G. Review: The endless nutritional and pharmaceutical benefits of the Himalayan gold, *Cordyceps*; Current knowledge and prospective potentials. Asian Journal of Natural Product Biochemistry. 2020;18(2):74–81. https://doi.org/10.13057/biofar/f180204

46. Ashraf SA, Elkhalifa AEO, Siddiqui AJ, Patel M, Awadelkareem AM, Mejdi S, *et al.* Cordycepin for health and wellbeing: A potent bioactive metabolite of an entomopathogenic medicinal fungus *Cordyceps* with its nutraceutical and therapeutic potential. Molecules. 2020;25(12):2735. https://doi.org/10.3390/molecules25122735

47. Holbein S, Freimoser FM, Werner TP, Wengi A, Dichtl B. Cordycepin-hypersensitive growth links elevated polyphosphate levels to inhibition of poly(A) polymerase in *Saccharomyces cerevisiae*. Nucleic Acids Research. 2008;36(2):353–363. https://doi.org/10.1093/nar/gkm990

48. Yu C-X, Zhang Y-R, Ren Y-F, Zhao Y, Song X-X, Yang H-L, *et al.* Composition and contents of fatty acids and amino acids in the mycelia of *Lentinula edodes*. Food Science and Nutrition. 2023;11(7):4038–4046. https://doi.org/10.1002/fsn3.3392

49. Nallathamby N, Malek SNA, Vidyadaran S, Phan CW, Sabaratnam V. Lipids in an ethyl acetate fraction of caterpillar medicinal mushroom, *Cordyceps militaris* (ascomycetes), reduce nitric oxide production in BV2 cells via NRF2 and NF-κB pathways. International Journal of Medicinal Mushrooms. 2020;22(12):1215–1223. https://doi.org/10.1615/IntJMedMushrooms.2020037001

50. Lan L, Wang S, Duan, S, Zhou X, Li Y. *Cordyceps militaris* carotenoids protect human retinal endothelial cells against the oxidative injury and apoptosis resulting from H_2O_2. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine. 2022;2022:1259093. https://doi.org/10.1155/2022/1259093

51. Zheng Q, Wei T, Lin Y, Ye Z-W, Lin J-F, Guo L-Q, *et al.* Developing a novel two-stage process for carotenoid production by *Cordyceps militaris* (ascomycetes). International Journal of Medicinal Mushrooms. 2019;21(1):47–57. https://doi.org/10.1615/IntJMedMushrooms.2018029002

52. Yang Y, Bu N, Wang S, Zhang J, Wang Y, Dong C. Carotenoid production by caterpillar medicinal mushrooms, *Cordyceps militaris* (ascomycetes), under different culture conditions. International Journal of Medicinal Mushrooms. 2020; 22(12):1191–1201. https://doi.org/10.1615/IntJMedMushrooms.2020036685

53. Zhao Y, Li S-L, Chen H-Y, Zou Y, Zheng Q-W, Guo L-Q, *et al.* Enhancement of carotenoid production and its regulation in edible mushroom *Cordyceps militaris* by abiotic stresses. Enzyme and Microbial Technology. 2021;148:109808. https://doi.org/10.1016/j.enzmictec.2021.109808

54. Lin P-J, Ye Z-W, Wei T, Wu J-Y, Zheng Q-W, Chen B-X, *et al.* Cross breeding of novel *Cordyceps militaris* strains with high contents of cordycepin and carotenoid by using *MAT* genes as selectable markers. Scientia Horticulturae. 2021;290:110492. https://doi.org/10.1016/j.scienta.2021.110492

55. Annepu SK, Sharma VP, Kumar S, Barh A. Cultivation techniques of shiitake (a medicinal mushroom with culinary delight). Chambaghat: ICAR-Directorate of Mushroom Research; 2019. 71 p.

56. Zhao P, Hou Y-C, Wang Z, Liao A-M, Pan L, Zhang J, *et al.* Effect of fermentation on structural properties and antioxidant activity of wheat gluten by *Bacillus subtilis*. Frontiers in Nutrition. 2023;10:1116982. https://doi.org/10.3389/fnut.2023.1116982

57. Clark AJ, Soni BK, Sharkey B, Acree T, Lavin E, Bailey HM, *et al.* Shiitake mycelium fermentation improves digestibility, nutritional value, flavor and functionality of plant proteins. LWT. 2022;156:113065. https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.113065

58. Turck D, Bohn T, Castenmiller J, de Henauw S, Hirsch-Ernst KI, Maciuk A, *et al.* Safety of pea and rice protein fermented by Shiitake (*Lentinula edodes*) mycelia as a Novel food pursuant to Regulation (EU) 2015/2283. EFSA Journal. 2022;20(4):e07205. https://doi.org/10.2903/j.efsa.2022.7205

ISSN 2074-9414 (Print)
ISSN 2313-1748 (Online)

https://doi.org/10.21603/2074-9414-2024-2-2503
https://elibrary.ru/WWYZRU

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

Gelatin Jelly Candy from Mackerel Skin (*Scomberomorus commersonii*)

Agustiana*, Siti Aisyah, Hafni Rahmawati, D.E. Anggraini, Aolia Ramadhani

Universitas Lambung Mangkurat, Banjarmasin, Indonesia

Received: 18.08.2023
Revised: 01.11.2023
Accepted: 05.12.2023

Agustiana: agustiana.fpk@ulm.ac.id, https://orcid.org/0000-0002-3991-4454
Hafni Rahmawati: https://orcid.org/0000-0001-5707-2759
Aolia Ramadhani: https://orcid.org/0000-0001-7763-8895

© Agustiana, S. Aisyah, H. Rahmawati, D.E. Anggraini, A. Ramadhani, 2024

Abstract.
Jelly candies are colorful, delicious, and loved by children. Mackerel skin gelatin has a good nutritional potential to increase the protein content in jelly candy. The present study tested consumer acceptance, proximate value, and quality of gelatin jelly candy fortified with eight different natural flavorings: honey, date juice, olive oil, soy milk, goat's milk, grape juice, avocado, and pumpkin.

Gelatin was extracted from mackerel (*Scomberomorus commersonii*) skin. The quality assessment involved tests on the water, ash, fat, and protein contents, as well as bacterial contamination. The sensory evaluation involved a hedonic test with 10 panelists, who found all samples acceptable in appearance, smell, flavor, and texture.

The average score for each criterium was 7.00 out of 9.00. The sample with soy milk proved to have the most optimal formulation: water (9.76 ± 0.70%), ash (0.21 ± 0.02%), protein (16.20 ± 0.37%), fat (2.32 ± 0.50%), carbohydrate (51.61 ± 0.80%), reducing sugar (0.14 ± 0.01%). All samples were free from *Salmonella* sp. and *Escherichia coli*, with a total plate count of 1×10^2 colonies per 1 g.

The jelly candy with mackerel skin gelatin was high in protein, had a favorable sensory profile, and met the Indonesia National Standard for this type of food products.

Keywords. Gelatin, halal gelatin, jelly candy, nutritional value, quality, mackerel skin, *Scomberomorus commersonii*

Funding. The research was supported by The Compulsory Research Lecturer Program with PNBP Financing Scheme at the Lambung Mangkurat University, fiscal year 2021 (main cluster), contract No. 010.49/UN 8.2/PL/2021.

For citation: Agustiana, Aisyah S, Rahmawati H, Anggraini DE, Ramadhani A. Gelatin Jelly Candy from Mackerel Skin (*Scomberomorus commersonii*). Food Processing: Techniques and Technology. 2024;54(2):236–244. https://doi.org/10.21603/2074-9414-2024-2-2503

https://doi.org/10.21603/2074-9414-2024-2-2503
https://elibrary.ru/WWYZRU

Оригинальная статья
https://fptt.ru

Жевательный мармелад с желатином из кожи скумбрии (*Scomberomorus commersonii*)

Агустиана*, С. Айсия, Х. Рахмавати, Д. Э. Анггрэйни, А. Рамадхани

Университет Ламбунг Мангкурат, Банджармасин, Индонезия

Поступила в редакцию: 18.08.2023
Принята после рецензирования: 01.11.2023
Принята к публикации: 05.12.2023

**Агустиана: agustiana.fpk@ulm.ac.id, https://orcid.org/0000-0002-3991-4454*
Х. Рахмавати: https://orcid.org/0000-0001-5707-2759
А. Рамадхани: https://orcid.org/0000-0001-7763-8895

© Агустиана, С. Айсия, Х. Рахмавати, Д. Э. Анггрэйни, А. Рамадхани, 2024

Аннотация.
Жевательный мармелад – это яркое и вкусное лакомство, которое пользуется спросом у детей. Желатин из кожи скумбрии (*Scomberomorus commersonii*) обладает хорошими питательными свойствами и может способствовать увеличению содержания белка в жевательном мармеладе. Описали потребительскую привлекательность, пищевую ценность и качество жевательного мармелада с желатином из кожи скумбрии и 8 натуральными ароматизаторами: мед, финиковый сок, оливковое масло, соевое молоко, козье молоко, виноградный сок, авокадо и тыква.
Желатин экстрагировали из кожи скумбрии (*S. commersonii*). Качество мармелада оценивали по содержанию влаги, золы, жира, белка и наличию бактерий. Органолептическая оценка заключалась в проведении гедонического теста: десять экспертов оценили все образцы как приемлемые по внешнему виду, запаху, вкусу и текстуре.
Средний балл по каждому критерию составил 7,0 из 9,0. Оптимальным по составу оказался образец с соевым молоком: содержание влаги составило 9,76 ± 0,70 %, золы – 0,21 ± 0,02 %, белка – 16,20 ± 0,37 %, жира – 2,32 ± 0,50 %, углеводов – 51,61 ± 0,80 %, редуцирующего сахара – 0,14 ± 0,01 %. В образцах не обнаружены *Salmonella* sp. или *Escherichia coli*; общее количество бактерий составило 1×10^2 колоний на 1 г.
Жевательный мармелад с желатином из кожи скумбрии оказался богат белком, продемонстрировал хорошие органолептические свойства и соответствовал государственному стандарту, принятому в Индонезии для данного типа пищевых продуктов.

Ключевые слова. Желатин, халяльный желатин, желейные конфеты, пищевая ценность, качество, кожа скумбрии, *Scomberomorus commersonii*

Финансирование. Исследование было поддержано Программой обязательных исследований по схеме PNBP для преподавателей Университета Ламбунг Мангкурат в 2021 финансовом году (основной кластер), договор № 010.49/UN 8.2/PL/2021.

Для цитирования: Жевательный мармелад с желатином из кожи скумбрии (*Scomberomorus commersonii*) / Агустиана [и др.] // Техника и технология пищевых производств. 2024. Т. 54. № 2. С. 236–244. (На англ.). https://doi.org/10.21603/2074-9414-2024-2-2503

Introduction

Gelatin is a protein commonly extracted from cartilage, skin, and scales of cows, pigs, and fish [1]. Halal gelatin cannot contain any pig-based products. As a rule, it is extracted from fish, e.g., mackerel (*Scomberomorus commersonii*) [2]. Gelatin preparations are part of various foods and non-food products. Gelatin serves as an emulsifier, a stabilizer, a microencapsulation agent, as a component of biodegradable packaging, etc. [3]. Its most useful property is the ability to form gels with convenient viscosity and melting point. As a result, gelatin is a popular component of various candy products [1].

Candy can be hard and soft. As a rule, candy contains cane sugar, corn sugar, flavorings, dyes, and gelling agents. Gelatin-based candy is called jelly candy and has a higher sugar content [4]. Jelly candy is often fortified with vitamins and minerals to improve children's diet [5]. Some sorts of jelly candy involve natural flavorings, e.g., nutmeg extract, strawberries and mangoes [6–8]. However, some confectionery industries prefer synthetic acid

flavorings with unreliable safety, e.g., citric acid, tartaric acid, and lactic acid [9]. According to Yanchenko *et al.*, the food industry does not meet nutrition standards in this sphere because producers ignore consumer safety to maximize profit [10]. In addition, jelly candy is rarely rich in protein. Fish skin gelatin may solve this problem by fortifying jelly candy with protein.

Natural flavorings with vitamins and minerals offer good prospects for candy production. According to Kia *et al.*, food products with natural additives are health-beneficial [11]. In this research, we used such natural ingredients as honey, date juice, olive oil, soy milk, goat's milk, grapes, avocado, and pumpkin. These flavorings are expected to raise the consumer attractiveness of halal gelatin candy. Furthermore, jelly candy made from mackerel skin gelatin potentially provides protein intake and reduces sugar consumption. This study featured consumer acceptance, proximate value, and quality profile of jelly candy with mackerel skin gelatin fortified with eight different natural flavorings.

Study objects and methods

Extracting mackerel skin gelatin. We used the protocol described by Rahmawati & Pranoto to extract gelatin from mackerel skin [12]. After soaking dried mackerel skin in water for ± 5 h, we heated it for ± 1 min to remove the remaining impurities. Then, the sample was soaked in 0.05 M of ethanolic acid (CH_3COOH) solution for 10 h. The extraction process involved heating with H_2O at 80°C for 2 h. Finally, the gelatin extract remained three days in an oven at 55°C.

Preparing gelatin jelly candy. We designed eight different natural flavorings, i.e., honey, date juice, olive oil, soy milk, goat's milk, grape juice, avocado, and pumpkin. Each test was performed in triplicate. The formulation and technology for jelly candy with fish skin gelatin was borrowed from Eletra *et al.* with some modifications [13]. We mixed 75 g gelatin, 85 g sucrose, 5 g salt, and 85 g natural ingredients. After adding 300 mL cold water, we stirred the mix until it became homogeneous. The sample was then heated at 100°C for 2 min, molded with soft silicone bear-shape templates, and cooled.

Water content analysis. To analyze the water content, we appealed to the method published by the Association of Official Analytical Chemists [14]. The samples were weighed up to 2.00 ± 0.01 g on a porcelain dish of known weight and dried in an oven at 105°C for 3 h. After being cooled in a desiccator, the weighing was repeated.

Ash content analysis. The samples were weighed up to 2.00 ± 0.01 g on a porcelain dish of known weight, ignited on a burner flame, and burned in an electric furnace at ≤ 550°C until complete combustion. Then, they were cooled in a desiccator and weighed until constant mass [14].

Fat content analysis. We placed 2.00 ± 0.01 g of each sample into a cotton-lined paper bag. The paper sleeve was covered with cotton, dried in an oven at ≤ 80°C for ± 1 h, and put into the Soxhlet extraction apparatus connected to an oil bottle with boiling chips. After drying, we determined the weight and extracted the sample with hexane for ± 6 h. Then we filtered the hexane and dried the fat extract in an oven at 105°C, cooled it, and weighed. The cooling process continued until constant weight [14].

Protein content analysis. The analysis of protein content relied on the method recommended by the Association of Official Analytical Chemists [14]. During the digestion, we put 1.00 ± 0.01 g of each sample into a 100 mL Kjehdahl flask with 10 mL of concentrated sulfuric acid. A catalyst was added to speed up the digestion. After the distillation, the digestion results were diluted with distilled water up to 100 mL. After homogenization and cooling, we pipetted 5 mL into a distillation flask. A total of 10 mL of 30% sodium hydroxide solution penetrated through the walls of the still flask until a layer formed under the acid solution. The container was filled with 10 mL of 0.1 N hydrochloric acid solution and drained with a methyl red indicator. The titration was accommodated in an Erlenmeyer flask with 0.1 N hydrochloric acids and five drops of methyl red indicator. The mix was titrated directly using a 0.1 N sodium hydroxide solution. The titration resulted in a pink-to-yellow color. This treatment was repeated three times for each sample.

Total plate count. The total plate count method belonged to Salanggon *et al.* [15]. A total of 25 g of each sample was weighed aseptically. After adding 225 mL Butterfield's phosphate buffer, we homogenized the mix for 2 min and diluted it. The homogenate was put with a sterile pipette into a vial containing 9 mL of Butterfield's phosphate buffer solution to obtain a sample with a dilution of 10^{-2}. Each dilutant was stirred at least 25 times to obtain further dilutants (10^{-3}, 10^{-4}, 10^{-5}, etc.). The volume of each diluent was 1 mL, and the procedure was repeated in a sterile petri dish with a sterile pipette. In each petri dish, 12–15 mL of medium was cooled to 5°C for the plate count agar method. After the agar hardened, it was incubated at 35°C for 8 h to count the number of bacterial colonies in the petri dish.

Screening of *Escherichia coli*. We homogenized 25 g of each sample with 225 mL peptone buffer and then fortified it at 37°C for 18 h. Next, 1 mL of the sample was inoculated directly into 9 mL of MacConkey broth (CM5a; Oxoid) and then incubated at 37°C for 18 h [16]. After that, we sprayed the fortified broth preparations directly onto eosin methylene blue agar and incubated them at 37°C for 18–24 h. The isolates were confirmed biochemically using an *E. coli* antiserum express diagnostic kit. *E. coli* O antiserum consisted of polyclonal antibodies used for zero-classification of *E. coli* O antigens.

Screening *Salmonella* sp. At the pre-fortification stage, the collected samples were serially diluted (10^{-1}, 10^{-2}, 10^{-3}, 10^{-4}, 10^{-5}, etc.) using peptone water [17]. At the fortification stage, we planted them on sterile selenite cystine broth selective media and incubated at

37°C for 24 h. After the fortification stage in each dilution, 1 mL was planted on xylose lysine deoxycholate. We analyzed bacteria growth by counting the colonies and observing their morphology. Purification involvedthe quadrant streaking method, with presupposed xylose lysine deoxycholate media and incubation at 37°C for 48 h. The purification process targeted colonies with different colony morphology that belonged to gram-negative bacteria.

After that, we selected two types of colonies. Each colony was duplicated so that eventually 40 colonies were obtained. The purification results were grown on slanted nutrient agar, incubated at 37°C for 24 h, and stored at –20°C as stock culture. The storage condition of pure bacterial isolates involved 60% glycerol in a ratio of 1:1 at –80°C.

Sensory analysis. Each sample was placed on a white plastic plate together with a glass of water, coded, and served to panelists randomly in a well-lit environment. The panel consisted of 10 trained panelists from the laboratory of testing and quality control of fishery products, Banjarbaru, South Kalimantan. The criteria included appearance, smell, texture, and flavor. The panelists rated the acceptance using a nine-point hedonic scale: 1 – dislike extremely, 2 – dislike very much, 3 – dislike moderately, 4 – dislike slightly, 5 – neither like nor dislike, 6 – like slightly, 7 – like moderately; 8 – like very much, 9 – like extremely.

Data analysis. All data that passed the homogeneity and normality tests were further analyzed using SPSS 20.0 for Windows and ANOVA Analysis of Variance ($p < 0.05$) followed by the Duncan's Test.

Results and discussion

Mackerel skin gelatin characterization. The water content in fish skin gelatin was 6.45%, which was lower than in the raw material (Table 1). In this research, the water content exceeded that reported by Viji *et al.* as 4.81 ± 0.41% [18]. However, it was lower than the data published by Ismail & Abdullah as 6.93% [19]. Yet, the water content met the Indonesian National Standard No. 01-3735-1995 Gelatin quality and test method. The Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives defines the maximum of 18%, and the Gelatin Manufacturers Institute of America mentions 10.5 ± 1.5% [20, 21].

According to Esfahani *et al.*, water content determines the stability of dry products [22]. High water content causes particle agglomeration and accelerates microbial growth and oxidation. Ash content was essential for evaluating gelatin quality, especially in terms of mineral content and purity. The ash content of fish skin gelatin (Table 1) meets the standards specified by the Indonesian National Standard (3.25%), the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (max. 2.00%), and the Gelatin Manufacturers Institute of America 0.5 ± 0.4–1.5 ± 0.5% (Indonesian National Standard No. 01-3735-1995) [20]. Specifics of aquatic environment, habitat, and species affect the ash content of fish skin gelatin. Its ash content also depends on the extraction process [23].

In this research, the protein content of gelatin depended on the time and concentration of chemicals used. This concentration broke more amino acid bonds, so that more protein broke down during extraction. The resulting protein content in gelatin was 91.52%, which exceeded the initial data for dry fish skin (69.76%) and wet fish skin (35.63%). The protein content in gelatin met the Indonesian National Standard (87.25%). However, our results exceeded those obtained by Zarubin *et al.* by 73.2 ± 0.9% [23]. The difference in the protein content resulted from the differences in the concentration of acid and base used during extraction. Acid and base concentration and immersion time combined were reported to produce high protein content [24].

Fat content is known to affect the quality of raw materials during storage. The fat content of skin gelatin equaled 0.73%, which was lower than the initial data for dry skin (4.85%) and wet skin (2.24%). This result was similar to that reported by Gunawan *et al.* as 0.71 ± 0.07% [24]. High-fat content shortens the shelf-life of gelatin and affects the quality of gelatin in the application process [23]. In our research, the value of carbohydrates in gelatin was 6.45%, which was much less than the initial data for dry fish skin (20.18%) and wet fish skin (60.74%). Carbohydrates are not considered as an essential parameter in gelatin production: the essential parameters include protein, water, and ash.

Sensory profile of gelatin jelly candy. Sensation is a psycho-physiological process in which sensory recognition of object characteristics is carried out through stimuli received by the senses [25]. In our research, the sensory evaluation results for the appearance ranged from "liked moderately" to "like very much". Figure 1 shows that the liquid honey-flavored sample received a bigger score than date juice, olive oil, and grape juice. The natural color of honey, clear brown when added, turned light brown. Adding olive oil and date juice made the jelly candy blackish-brown while adding grape juice made it yellowish [26, 27]. The appearance score of the soy milk and goat's milk samples was very similar; both were yellow-brown but not like the honey sample. The milk powder had a color similar to that of the jelly candy formulation. According to Charoenphun, milk powder

Table 1. Mackerel skin gelatin proximate

Таблица 1. Предварительный анализ состава кожи скумбрии

Proximate, %	Mackerel raw skin	Mackerel dry skin	Mackerel gelatin
Water	60.74	20.18	6.45
Ash	5.23	2.36	0.86
Protein	35.63	69.76	91.52
Fat	4.85	2.24	0.73
Carbohydrate	60.74	20.18	6.45

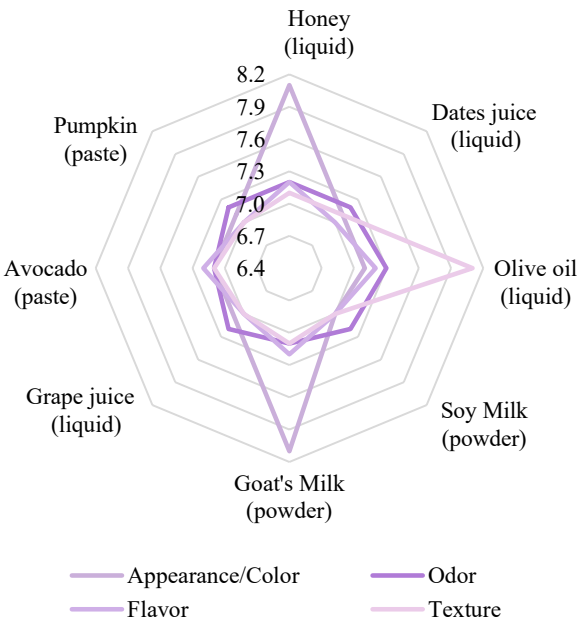


Figure 1. Sensory analysis of gelatin jelly candy

Рисунок 1. Органолептический анализ жевательного мармелада с желатином из кожи скумбрии

makes jelly candy light yellow or pale white [28]. Avocado and pumpkin turned the gelatin black. The problem is that avocado naturally produces ethylene gas, which is associated with ripening. It converts methionine to S-adenosylmethionine, which causes blackness when added to food [29].

The smell category received "like moderately" from all panelists. The samples with goat's milk powder had the highest score for smell (7.6), followed by olive oil (7.3) and honey, grape juice, date juice, soy milk, avocado, and pumpkin (7.1–7.2). The aroma of goat's milk turned out to be stronger than that of the other flavorings. Even unprocessed, goat's milk has a strong smell and taste caused by caproic acid [30]. The specific aroma can be removed by adding rare sugar (D-psychose, D-tagatose, D-sorbose): it would neutralize caproic acid with a glycation reaction. Znamirowska *et al.* stated that fresh goat's milk contains protein (2.69 ± 0.22%), fat (2.98 ± 0.53%), and general acidity (6.20 ± 1.20%) [31].

The flavor category also received "like moderately" from most panelists, the score ranging from 7.0 to 7.4. The avocado paste sample had the highest score of 7.4. Avocado has a naturally sweet taste, soft and savory. The savory flavor comes from the fat vegetable content of 0.71–2.15% and the total fatty acid content of 37–85% [32].

The texture evaluation ranged from "like moderately" to "like very much". The sample fortified with olive oil demonstrated a significant difference from other samples in this respect. Olive oil has a characteristic yellowish-gold color, sometimes greenish, and its relatively thick texture is rather oily. According to Bermúdez-Oria *et al.*, gelatin serves as a stabilizer, as well as an adhesive and gelling agent in jelly candy while olive oil gives it an oily and shiny chewy texture [33].

Gelatin jelly candy proximate analysis. Table 2 shows the proximate analysis of gelatin jelly candy with various natural ingredients. Water content had no significant effect ($p > 0.05$): each natural ingredient brought about different water content. The samples with soy milk and goat's milk powder produced the best water content between 9.76 ± 0.70 and 9.92 ± 0.68%. Initially, soy milk powder contains 3.31 ± 0.27% water, and goat's milk powder has 5.48 ± 0.23% water [34, 35]. Honey, dates, olive oil, and grapes added in liquid form resulted in very high water content compared to pasta ingredients (avocado and pumpkin). The correlation with the initial water content in the natural raw materials is very strong: honey contains 5.20 ± 0.33% of water while grapes contain 21.17 ± 0.76%, avocado contains 34.28 ± 0.95%, and pumpkin contains 14.18 ± 0.22% [36–39].

Table 2. Proximate analysis of gelatin jelly candy

Таблица 2. Предварительный анализ состава жевательного мармелада с желатином из кожи скумбрии

Natural ingredients, form	Proximate, %					
	Water	Ash	Protein	Fat	Carbohydrate	Sugar reduction
Honey (liquid)	10.25 ± 0.42^{a}	0.13 ± 0.01^{a}	15.67 ± 0.52^{a}	2.20 ± 0.23^{a}	63.93 ± 1.28^{a}	0.18 ± 0.07^{a}
Date juice (liquid)	14.09 ± 0.84^{b}	0.32 ± 0.01^{b}	15.82 ± 0.53 ^{a}	2.35 ± 0.26^{a}	64.03 ± 1.14^{b}	0.26 ± 0.03^{a}
Olive oil (liquid)	10.71 ± 0.60^{a}	0.18 ± 0.01^{c}	15.77 ± 0.67^{a}	2.09 ± 0.22^{a}	58.26 ± 1.60^{c}	0.13 ± 0.05^{a}
Soy milk (powder)	9.76 ± 0.70^{a}	0.21 ± 0.02^{d}	16.20 ± 0.37^{a}	2.32 ± 0.50^{a}	51.61 ± 0.80^{c}	0.14 ± 0.01^{a}
Goat's milk (powder)	9.92 ± 0.68^{a}	0.20 ± 0.03^{cde}	13.97 ± 0.36^{b}	1.99 ± 0.28^{a}	57.57 ± 0.79^{ad}	0.17 ± 0.09^{a}
Grape juice (liquid)	10.82 ± 0.78^{a}	0.15 ± 0.01^{a}	13.62 ± 0.37^{b}	2.31 ± 0.33^{a}	62.55 ± 0.59^{ade}	0.18 ± 0.05^{a}
Avocado (paste)	10.23 ± 0.46^{a}	0.18 ± 0.01^{cef}	14.19 ± 0.45^{b}	1.67 ± 0.30^{a}	63.94 ± 1.46^{adef}	0.12 ± 0.05^{a}
Pumpkin (paste)	10.48 ± 0.56^{a}	0.14 ± 0.02^{a}	14.39 ± 0.64^{b}	2.29 ± 0.35^{a}	61.81 ± 1.20^{aeg}	0.22 ± 0.05^{a}
Indonesian National Standard for jelly candy	20.00	3.00	–	–	–	25.00

Note: Means in the rows with different superscripts are significantly ($p \leq 0.05$) different.

Примечание: Средние значения с разными верхними индексами существенно различаются ($p \leq 0{,}05$).

Water content greatly affects the quality and durability of gelatin jelly candy [40]. In our study, the overall water content of gelatin jelly candy fell within the standards set by Indonesian National Standard No. 3547-2-2008 Jelly candy with its maximum of 20.00%. The variance analysis showed that adding natural ingredients affected the water content significantly ($p < 0.05$). The highest ash content of 0.21 ± 0.02% belonged to the sample fortified with soy milk powder. However, the value of ash content in this study met the standards required by the Indonesian National Standard (max. 3.00%). The high ash content in the samples with soy milk and goat's milk powder was due to the initial mineral content in the raw materials. The ash content of soy milk powder is 0.40 ± 0.05%, and that of goat's milk is 0.07 ± 0.00% [34, 41].

During processing, the total minerals in the raw materials did not change significantly. The ash content and that of gelling agents were higher in the final product. The ash content tended to be lower in the samples with liquid honey, olive oil, date juice, and grapes, as well as in avocado and pumpkin pastes. Obviously, the fruit extraction process reduced the mineral content in the fruit juice. The components are easily decomposed or evaporated during fruit ashing [42].

Table 2 showed that the value of protein content ranged from 13.62 ± 0.37 to 16.20 ± 0.37%. According to the variance analysis, the natural ingredients produced a significant effect on the protein content ($p < 0.05$). The highest protein content of 16.20 ± 0.37% belonged to the sample fortified with soy milk powder. Fresh soy milk contains 23.08 ± 0.16% protein while powdered soy milk has a protein content of 5.09 ± 0.29% [34, 43]. Interestingly, the protein content of gelatin produced a very high protein content of 91.52%.

Protein intake is needed to build muscle mass, especially in toddlers. Jelly candy can deliver bioactive compounds required by the toddler's body. The protein content in the samples fortified with natural ingredients in liquid form (honey, olive oil, dates, and grapes) and paste form (avocado and pumpkin) also had a relatively high protein content [44]. Kia *et al.* reported that jelly candy with gelatin had a higher protein content [11].

The natural ingredients produced no significant effect on fat content ($p < 0.05$). In the sample with soy milk powder, the fat content was 2.32 ± 0.50%. The high and low-fat content of jelly candy depended on the differences in the raw materials used. According to Nemo & Bacha, the fat content in honey is 0.27 ± 0.20% [36]. Other studies reported the following fat contents for different raw materials: soy milk powder – 11.36 ± 0.44%, goat's milk powder – 1.02 ± 0.09%, grapes – 0.64 ± 1.17%, avocado – 6.66 ± 0.10, pumpkin – 4.50 ± 0.21% [34, 37–39, 41].

The total value of carbohydrates in this study ranged from 51.61 ± 0.80 to 64.03 ± 1.14%. The variance analysis showed that adding natural ingredients to gelatin jelly candy had a significant impact on total carbohydrates ($p < 0.05$). The highest total carbohydrate value belonged to the sample fortified with date juice and equaled 64.03 ± 1.14%, probably because the calculation of carbohydrates was carried out using the by-difference method. The high value of carbohydrates in each treatment managed to meet the requirements for energy intake.

Liu *et al.* explained that carbohydrates give food a sweet taste, especially monosaccharides and disaccharides that provide energy for the body [44]. The value of carbohydrates in our study depended on the raw materials. The level of carbohydrates was quite high in grapes (49.17 ± 2.31%), avocado (54.23 ± 0.02%), and pumpkin (61.71 ± 0.10%) [37–39].

Sugar residue is a substance left after a specific chemical process; this residue could be likened to salt. In our research, the mean value ranged from 0.12 ± 0.05 to 0.26 ± 0.05%. The results followed the Indonesian National Standard for jelly candy with its maximum of 25.00%. The statistical analysis of the sugar reduction between the samples revealed no significant effect ($p > 0.05$). It was because the sugar residue came from the sucrose produced by jelly candy. Garusti *et al.* stated that palm sugar contains 87.10% sucrose with 6.06% reducing sugar [45]. The content of reducing sugars depends on the inversion of sucrose into reducing sugars. The low level of reducing sugar in the study was due to the natural ingredients used. Reducing sugar in natural ingredients tends to be lower and can be easily synthesized by the body [46].

Microbiological analysis. The total plate count value was $\leq 1\times10^2$ colonies per 1 g, which met the Indonesian National Standard for jelly candy, i.e., 3×10^3 colonies per 1 g (Indonesian National Standard No. 3547-2-2008). The low total plate count could be explained by the fact that sucrose has antibacterial properties. In Balakrishnan *et al.*, sucrose was oxidized to form acetals in the heating process [47]. The acetal group can release cation-charged ions that interact with the anionic charge of the microbial cell membrane through electrostatic bonds, thus increasing cell permeability, and cell leakage leads to cell death.

All samples of gelatin jelly candy exhibited negative results for *E. coli* and *Salmonella* sp. The results also met the Indonesian National Standard. The absence of *E. coli* and *Salmonella* sp. could be traced to the natural antibacterial activity of the ingredients added. According to Handayani *et al.*, some natural ingredients in liquid form have antibacterial properties against *Staphylococcus aureus* and *E. coli* at a maximum concentration of 0.04 g/mL [48].

Conclusion

The mackerel skin gelatin jelly candy fortified by different natural flavorings was well received by panelists, with evaluations ranging from "like moderately" to "like very much". The nutritional quality of the gelatin jelly candy met the Indonesian National Standard. The best results belonged to the samples fortified with soy milk: it had the highest protein and the lowest carbohydrate

contents. Further research will feature the amino acids in each flavor sample of gelatin jelly candy.

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 interests regarding the publication of this article.

Acknowledgements

The authors express their gratitude to the Rector of Universitas Lambung Mangkurat for providing funds through The Compulsory Research Lecturer Program with the PNBP Financing Scheme at the Lambung Mangkurat University, fiscal year 2021 (main cluster).

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.

Благодарности

Авторы выражают благодарность ректору Университета Ламбунг Мангкурат за финансирование проекта в рамках Программы обязательных исследований по схеме PNBP для преподавателей Университета Ламбунг Мангкурат в 2021 финансовом году (основной кластер).

References

1. Said NS, Sarbon NM. Response surface methodology (RSM) of chicken skin gelatin based composite films with rice starch and curcumin incorporation. Polymer Testing. 2020;81:106161. https://doi.org/10.1016/j.polymertesting.2019.106161

2. Xiong Y, Kamboj M, Ajlouni S, Fang Z. Incorporation of salmon bone gelatine with chitosan, gallic acid and clove oil as edible coating for the cold storage of fresh salmon fillet. Food Control. 2021;125:107994. https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2021.107994

3. Voroshilin RA, Kurbanova MG, Ostapova EV, Makhambetov EM, Petrov AN, Khelef MEA. Effect of gelatin drying methods on its amphiphilicity. Foods and Raw Materials. 2022;10(2):252–261. https://doi.org/10.21603/2308-4057-2022-2-534

4. Efe N, Bielejewski M, Tritt-Goc J, Mert B, Oztop MH. NMR relaxometry study of gelatin based low-calorie soft candies. Molecular Physics. 2019;117(7–8):1034–1045. https://doi.org/10.1080/00268976.2018.1564392

5. Firdaus F, Kresnanto VA, Fajrianto F. Variation of sucrose content as sweetener in nutraceutical formulation of gummy candies yellow passion fruit juice (*Passiflora edulis var. flavicarpa*). Teknoin. 2014;20(4):1–13.

6. Matulyte I, Marksa M, Bernatoniene J. Development of innovative chewable gel tablets containing nutmeg essential oil microcapsules and their physical properties evaluation. Pharmaceutics. 2021;13(6):873. https://doi.org/10.3390/pharmaceutics13060873

7. Ali MR, Mohamed RM, Abedelmaksoud TG. Functional strawberry and red beetroot jelly candies rich in fibers and phenolic compounds. Food Systems. 2021;4(2):82–88. https://doi.org/10.21323/2618-9771-2021-4-1-82-88

8. Sachlan PAAU, Mandey LC, Langi TM. Organoleptic properties of kuini mango (*Mangifera odorata* Griff) jelly candy with different concentration of glucose syrup and gelatine. Agricultural Technology Journal. 2019;10(2):113–118. https://doi.org/10.35791/jteta.10.2.2019.29121

9. Kim EH-J, Paredes D, Motoi L, Eckert M, Wadamori Y, Tartaglia J, *et al.* Subthreshold chemesthetic stimulation can enhance flavor lastingness of a soft chewable candy. Food Research International. 2021;140:109883. https://doi.org/10.1016/j.foodres.2020.109883

10. Yanchenko EV, Volkova GS, Kuksova EV, Virchenko II, Yanchenko AV, Serba EM, *et al.* Chemical composition and sensory profile of sauerkraut from different cabbage hybrids. Food Processing: Techniques and Technology. 2023;53(1):131–139. (In Russ.). https://doi.org/10.21603/2074-9414-2023-1-2420; https://elibrary.ru/FOEDXY

11. Kia EM, Ghaderzadeh S, Langroodi AM, Ghasempour Z, Ehsani A. Red beet extract usage in gelatin/gellan based gummy candy formulation introducing *Salix aegyptiaca* distillate as a flavouring agent. Journal of Food Science and Technology. 2020;57:3355–3362. https://doi.org/10.1007/s13197-020-04368-8

12. Rahmawati H, Pranoto Y. Physico-chemical of gelatin extracted from fresh and dry swamp ell and catfish skin. Fish Scientiae. 2012;2(3):18–30. https://doi.org/10.20527/fs.v2i3.1148

13. Eletra Y, Susilawati, Astuti S. The effect of gelatin concentration on sensory characteristic of goat milk jelly candy. Jurnal Teknologi and Industri Hasil Pertanian. 2013;18(2):185–195. (In Indonesian).

14. Official methods of analysis. 18th ed. Washington: Association of Official Analytical Chemists; 2005.

15. Salanggon AM, Hanifah H, Tanod WA, Hermawan R. ALT bacteria and mold of wet noodles squid with different storage times. Kauderni: Journal of Fisheries, Marine, and Aquatic Science. 2020;2(1):45–51. https://doi.org/10.47384/kauderni.v2i1.28

16. Hussein MA, Merwad AMA, Elabbasy MT, Suelam IIA, Abdelwahab AM, Taha MA. Prevalence of enterotoxigenic *Staphylococcus aureus* and shiga toxin producing *Escherichia coli* in fish in Egypt: Quality parameters and public health hazard. Vector-Borne and Zoonotic Diseases. 2018;19(4). https://doi.org/10.1089/vbz.2018.2346

17. Akbar MY, Diansyah G, dan Isnaini. Detection of *Salmonella* sp. contamination in anchovy (*Stolephorus* spp.) as fisheries product in Sungsang Waters Banyuasin District South Sumatera. Maspari Journal. 2016;8(1):25–30. (In Indonesian).

18. Viji P, Phannendra TS, Jesmi D, Rao BM, Das PHD, George N. Functional and antioxidant properties of gelatin hydrolysates prepared from skin and scale of sole fish. Journal of Aquatic Food Product Technology. 2019;28(10):976–986. https://doi.org/10.1080/10498850.2019.1672845

19. Ismail N, Abdullah HZ. The extraction of gelatin from black tilapia fish skins with different acid concentration. Journal of Physics: Conference Series. 2019;1150:012041. https://doi.org/10.1088/1742-6596/1150/1/012041

20. Edible gelatin. Rome: Food and Agriculture Organization; 2004.

21. Gelatin handbook. Iowa: Gelatin Manufacturers Institute of America; 2019. 26 p.

22. Esfahani R, Jafari SM, Jafarpour A, Dehnad D. Loading of fish oil into nanocarriers prepared through gelatin-gum Arabic complexation. Food Hydrocolloids. 2019;90:291–298. https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2018.12.044

23. Zarubin NYu, Kharenko EN, Bredikhina OV, Arkhipov LO, Zolotarev KV, Mikhailov AN, *et al.* Application of the *Gadidae* fish processing waste for food grade gelatin production. Marine Drugs. 2021;19(8):455. https://doi.org/10.3390/md19080455

24. Gunawan F, Suptijah P, Uju U. Extraction and characterization of mackerel (*Scomberomorus commersonii*) skin gelatin from Bangka Belitung Islands Province. Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia. 2017;20(3):568–581. https://doi.org/10.17844/jphpi.v20i3.19814 (In Indonesian).

25. Sergev AI, Kalinina IG, Shilkina NG, Barashkova II, Gradova MA, Motyakin MV, *et al.* Effect of elevated storage temperatures on the physicochemical and sensory properties of apple puree. Food Processing: Techniques and Technology. 2023;53(2):259–271. (In Russ.). https://doi.org/10.21603/2074-9414-2023-2-2430; https://elibrary.ru/SDZLSC

26. Burapalit K, Kitsawad K, Tipvarakarnkoon T. Physicochemical and sensory properties of juice from different types of date. Food and Applied Bioscience Journal. 2020;8(2):40–52.

27. Jeon J-E, Lee L-I. Effects of adding green grape juice on quality characteristics of konjak jelly. Journal of the Korean Society of Food Culture. 2019;34(5):629–636. https://doi.org/10.7318/KJFC/2019.34.5.629

28. Charoenphun N. A study of optimum formula for healthy Thai jelly sugar candy production. Walailak Journal of Science and Technology. 2021;18(15):9655. https://doi.org/10.48048/wjst.2021.9655

29. Garcia F, Davidov-Pardo G. Recent advances in the use of edible coatings for preservation of avocados: A review. Journal of Food Science. 2021;88(1):6–15. https://doi.org/10.1111/1750-3841.15540

30. Zine-eddine Y, Zinelabidine LH, Kzaiber F, Oussama A, Boutoial K. Analysis of acceptance and factors affecting the consumption of goat's milk in Morocco. Small Ruminant Research. 2021;197:106338. https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2021.106338

31. Znamirowska A, Kalicka D, Pawlos M, Szajnar K. Quality of yoghurts from goat's milk enriched with magnesium chloride. Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences. 2015;4(4):369–372. https://doi.org/10.15414/jmbfs.2015.4.4.369-372

32. Cervantes-Paz B, Yahia EM. Avocado oil: Production and market demand, bioactive components, implications in health, and tendencies and potential uses. Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety. 2021;20(4):4120–4158. https://doi.org/10.1111/1541-4337.12784

33. Bermúdez-Oria A, Rodríguez-Gutiérrez G, Rubio-Senent F, Fernández-Prior Á, Fernández-Bolaños J. Effect of edible pectin-fish gelatin films containing the olive antioxidants hydroxytyrosol and 3,4-dihydroxyphenylglycol on beef meat during refrigerated storage. Meat Science. 2018;148:213–218. https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2018.07.003

34. Purbasari D. Application of the foam-mat drying method in processing of instant soybean milk powder. Jurnal Agroteknologi. 2019;13(01):52–61. https://doi.org/10.19184/j-agt.v13i01.9253 (In Indonesian).

35. de Oliveira AH, Mata MERMC, Mauri F, Duarte MEM, Pasquali M, Lisboa HM. Influence of spray drying conditions on the properties of whole goat milk. Drying Technology. 2020;39(6):726–737. https://doi.org/10.1080/07373937.2020.1714647

36. Nemo R, Bacha K. Microbial quality, physicochemical characteristics, proximate analysis, and antimicrobial activities of honey from Anfilo district. Food Bioscience. 2021;42:101132. https://doi.org/10.1016/j.fbio.2021.101132

37. Ahmed IAM, Özcan MM, Juhaimi FA, Babiker EFE, Ghafoor K, Banjanin T, *et al.* Chemical composition, bioactive compounds, mineral contents, and fatty acid composition of pomace powder of different grape varieties. Journal of Food Processing and Preservation. 2019;44(7):e14539. https://doi.org/10.1111/jfpp.14539

38. García-Vargas MC, Contreras MM, Gómez-Cruz I, Romero-García JM, Castro E. Avocado-derived biomass: Chemical composition and antioxidant potential. Proceedings. 2021;70(1):100. https://doi.org/10.3390/foods_2020-07750

39. Mardiah, Fitrilia T, Widowati S, Andini SF. Proximate composition of three varieties of pumpkin flour (*Cucurbita* sp.). Jurnal Agroindustri Halal. 2020;6(1):97–104. https://doi.org/10.30997/jah.v6i1.2679 (In Indonesian).

40. Meilianti, Aznury M, Yuniar, Sofia, Farhan I, Agustina L. Characterization of red beetroot soft jelly candy with guava extract and gel colloid added. Journal of Physics Conference Series. 2020;1500:012053. https://doi.org/10.1088/1742-6596/1500/1/012053

41. Nurwantoro N, Susanti S, Rizqiati H. Yield, ash content, fat content, and total yeast kefir goat milk powder with different drying methods. Proceedings of the National Seminar on Sustainable Development of Rural Resources and Local Wisdom IX. Banyumas: Universitas Jenderal Soedirman; 2019. p. 297.

42. Satria RR, Ubaidillah U, Imaduddin F. Analytical approach of a pure flow mode serpentine path rotary magneto-rheological damper. Actuators. 2020;9(3):56. https://doi.org/10.3390/act9030056

43. Gamba RR, Koyanagi T, Peláez AL, de Antoni G, Enomoto T. Changes in microbiota during multiple fermentation of kefir in different sugar solutions revealed by high-throughput sequencing. Current Microbiology. 2021;78:2406–2413. https://doi.org/10.1007/s00284-021-02501-0

44. Liu K, Chen Y-Y, Zha X-Q, Li Q-M, Pan L-H, Luo J-P. Research progress on polysaccharide/protein hydrogels: Preparation method, functional property and application as delivery systems for bioactive ingredients. Food Research International. 2021;147:110542. https://doi.org/10.1016/j.foodres.2021.110542

45. Garusti, Yogi YA, Nurindah N. Analysis of tanjung sugar quality of three sugarcane varieties. Jurnal Littri. 2019; 25(2):91–99. https://doi.org/10.21082/jlittri.v25n2.2019.91-99 (In Indonesian).

46. Irfianti A, Sunarharum WB. Exploration of chemical physical characteristics and the component of sugar at garifta mango (*Mangifera indica*). Jurnal Pangan dan Agroindustri. 2019;7(2):47–52. https://doi.org/10.21776/ub.jpa.2019.007.02.5 (In Indonesian).

47. Balakrishnan P, Sreekala MS, Geethamma VG, Kalarikkal N, Kokol V, Volova T, *et al.* Physicochemical, mechanical, barrier and antibacterial properties of starch nanocomposites crosslinked with pre-oxidised sucrose. Industrial Crops and Products. 2019;130:398–408. https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2019.01.007

48. Handayani DS, Pranoto, Saputra DA, Marliyana SD. Antibacterial activity of polyeugenol against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli.* IOP Conference Series: Materials Science and Engineering. 2018;578:012061. https://doi.org/10.1088/1757-899X/578/1/012061

ISSN 2074-9414 (Print)
ISSN 2313-1748 (Online)

https://doi.org/10.21603/2074-9414-2024-2-2504
https://elibrary.ru/YMIEWZ

Оригинальная статья
https://fptt.ru

Исследование нативной микробиоты рапсового жмыха – потенциального источника промышленных продуцентов

О. П. Свердлова[1], Е. В. Подшивалова[2], Н. Ю. Шарова[1,2], Д. Д. Белова[1,*]

[1] *Всероссийский научно-исследовательский институт пищевых добавок, Санкт-Петербург, Россия*

[2] *Национальный исследовательский университет ИТМО, Санкт-Петербург, Россия*

Поступила в редакцию: 05.12.2023
Принята после рецензирования: 25.01.2024
Принята к публикации: 06.02.2024

**Д. Д. Белова: antonina-daria@mail.ru,*
https://orcid.org/0000-0002-0630-7658
О. П. Свердлова: https://orcid.org/0000-0002-1786-0061
Е. В. Подшивалова: https://orcid.org/0009-0007-9006-5201
Н. Ю. Шарова: https://orcid.org/0000-0002-4208-9299

© О. П. Свердлова, Е. В. Подшивалова, Н. Ю. Шарова, Д. Д. Белова, 2024

Аннотация.
В России активно развивается производство рапсового масла, основным побочным продуктом которого является жмых. Богатый химический состав и доступность делают рапсовый жмых перспективным источником питательных веществ, его можно использовать для культивирования микроорганизмов и получения с помощью них ценных биологически активных соединений и продуктов с улучшенной питательной ценностью. Целью работы являлось исследование нативной микробиоты рапсового жмыха в условиях повышенной влажности, морфологическая характеристика выделенных микроорганизмов и определение их таксономической принадлежности до рода при помощи NGS-секвенирования.
Объектами исследования являлись рапсовый жмых и колонии микроорганизмов, выделенные в процессе его ферментации. Для выделения представителей нативной микробиоты рапсового жмыха провели 2, 5, 7 и 9-суточную ферментацию глубинным способом. Для получения микробных изолятов применили метод поверхностного и глубинного культивирования на плотной и жидких питательных средах соответственно. Метагеномный анализ таксономического состава микробиоты проводили с помощью секвенирования на платформе Illumina.
Выявили 16 типов колоний по их морфологии. Колонии с морфологией 1, 3, 8, 12 и 13 являлись преобладающими для всех суток ферментации, что позволяет сделать вывод о их росте при жидкофазной ферментации на рапсовом жмыхе в качестве изолятов. При помощи метагеномного анализа суспензии рапсового жмыха обнаружили присутствие более 28 родов бактерий. Наибольшее процентное содержание пришлось на бактерии родов *Weisella* (до 45,8 % на 2-е сутки), *Acinetobacter* (до 40,6 % на 7-е сутки), *Lactobacillus* (до 15,7 % на 5-е сутки), *Leuconostoc* (до 15,1 % на 7-е сутки), *Enterococcus* (до 14,6 % на 5-е сутки) и *Paenibacillus* (до 16,3 % на 9-е сутки).
Полученные изоляты представляют интерес в качестве промышленных продуцентов полезных метаболитов (ферментов, пигментов, органических кислот и др.). Дальнейшая работа будет направлена на идентификацию микроорганизмов для определения их видовой принадлежности. Это позволит выявить их полезные характеристики и подобрать оптимальные условия культивирования.

Ключевые слова. Рапс, жмых, отходы пищевых производств, нативная микробиота, ферментация, микроорганизмы-продуценты

Финансирование. Исследования проведены по теме FGUS-2022-0003 в рамках государственного задания № 075-01190-22-00 Всероссийского научно-исследовательского института пищевых добавок (ВНИИПД).

Для цитирования: Исследование нативной микробиоты рапсового жмыха – потенциального источника промышленных продуцентов / О. П. Свердлова [и др.] // Техника и технология пищевых производств. 2024. Т. 54. № 2. С. 245–260. https://doi.org/10.21603/2074-9414-2024-2-2504

https://doi.org/10.21603/2074-9414-2024-2-2504
https://elibrary.ru/YMIEWZ

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

Native Microbiota of Rapeseed Cake as Potential Source of Industrial Producers

Olga P. Sverdlova[1], Elizaveta V. Podshivalova[2], Natalya Yu. Sharova[1,2], Daria D. Belova[1,*]

[1] *All-Russian Research Institute for Food Additives, St. Petersburg, Russia*

[2] *ITMO University, St. Petersburg, Russia*

Received: 05.12.2024
Revised: 25.01.2024
Accepted: 06.02.2024

**Daria D. Belova: antonina-daria@mail.ru, https://orcid.org/0000-0002-0630-7658*
Olga P. Sverdlova: https://orcid.org/0000-0002-1786-0061
Elizaveta V. Podshivalova: https://orcid.org/0009-0007-9006-5201
Natalya Yu. Sharova: https://orcid.org/0000-0002-4208-9299

© O.P. Sverdlova, E.V. Podshivalova, N.Yu. Sharova, D.D. Belova, 2024

Abstract.
Rapeseed oil production is very active in Russia. Its main by-product is cake: its chemical composition and availability make it an excellent source of nutrients in microbial cultivation to be used as biologically active compounds or as part of functional products. The research objective was to study the native microbiota of rapeseed cake under conditions of high humidity, as well as to describe the morphology of isolated microorganisms and determine their genera by NGS sequencing.
The study featured rapeseed cake and microbial colonies isolated after 2, 5, 7, and 9 days of fermentation. The microbial isolates were obtained by the method of surface and deep cultivation on solid and liquid nutrient media, respectively. The metagenomic analysis of the microbial taxonomy involved sequencing on the Illumina platform.
The experiment revealed 16 types of colonies with different morphology. Colonies with morphology 1, 3, 8, 12, and 13 were predominant for all fermentation periods, which means that they grew as isolates during the liquid-phase fermentation. The metagenomic analysis revealed at least 28 genera of bacteria in the rapeseed cake suspensions. The highest percentage belonged to *Weisella* (≤ 45.8% on day 2), *Acinetobacter* (≤ 40.6% on day 7), *Lactobacillus* (≤ 15.7% on day 5), *Leuconostoc* (≤ 15.1% on day 7), *Enterococcus* (≤ 14.6% on day 5), and *Paenibacillus* (≤ 16.3% on day 9).
The obtained isolates could be of interest as industrial producers of useful metabolites, e.g., enzymes, pigments, organic acids, etc. Further research will identify the microbial species, their useful properties, and optimal cultivation conditions.

Keywords. Rapeseed, cake, food production waste, native microbiota, fermentation, microorganisms-producers

Funding. The research was part of FGUS-2022-0003 research topic, State Assignment No. 075-01190-22-00 to the All-Russian Research Institute for Food Additives (VNIIPD).

For citation: Sverdlova OP, Podshivalova EV, Sharova NYu, Belova DD. Native Microbiota of Rapeseed Cake as Potential Source of Industrial Producers. Food Processing: Techniques and Technology. 2024;54(2):245–260. (In Russ.). https://doi.org/10.21603/2074-9414-2024-2-2504

Введение

Производство и переработка семян рапса в России в последние десятилетия активно развиваются. Данная культура адаптируется к почвенно-климатическим условиям регионов рискованного земледелия, быстро созревает и дает стабильный урожай. Основным продуктом, получаемым из семян рапса, является пищевое масло с ценным жирнокислотным составом, которое используют в пищу и в качестве сырьевого компонента для производства пищевых продуктов [1]. Поскольку семена рапса содержат примерно 40–45 % масла, то более половины оставшегося сырья превращается в прессованный рапсовый жмых – основной побочный продукт производства рапсового масла [2]. Жмых характеризуется высоким содержанием белка, липидов, клетчатки и является природным источником минералов, витаминов и фенольных соединений [3].

Рапсовый жмых применяют в кормлении различных сельскохозяйственных животных отдельно и в составе комбикормов, а также в качестве удобрений для растений или получения белковых концентратов [4, 5]. Включение рапсового жмыха в состав полиуретановой матрицы позволило получить композитный материал с улучшенными физико-химическими свойствами,

что делает его перспективным объектом исследования в области материаловедения [6]. Применение порошка рапсового жмыха в качестве стабилизатора эмульсий может повысить его ценность для пищевой промышленности [7, 8]. Из рапсового жмыха выделяют соединения с высокой добавленной стоимостью (белок и полифенолы) путем ферментации молочнокислыми бактериями и ферментативной обработки [9].

Быстрое развитие производства рапса в России и его широкое распространение в мире ведет к увеличению производства рапсового жмыха. Биотехнологическая переработка жмыха считается экономически эффективным способом переработки побочных продуктов для получения и восстановления ценных биологически активных соединений (белков, пептидов, ферментов, пигментов и фенольных соединений), которые представляют экономический и промышленный интерес при одновременном получении продуктов с улучшенной питательной ценностью [10].

Изучение микробного сообщества рапсового жмыха позволит выделить основные группы микроорганизмов, которые могут быть культивированы с использованием данного типа сырья, и определить их полезные биохимические свойства.

Целью работы являлось получение данных о морфологических характеристиках нативной микробиоты рапсового жмыха при помощи его жидкофазной ферментации в присутствии собственной микробиоты и определение преобладающих микроорганизмов на различных этапах ферментации и таксономической принадлежности выделенных микроорганизмов до рода при помощи секвенирования нового поколения (Next generation sequencing, NGS-секвенирование).

Объекты и методы исследования

Объектами исследования являлись рапсовый жмых (производитель «Рецепты Дедушки Никиты», г. Екатеринбург) и колонии микроорганизмов, выделенные в результате ферментации рапсового жмыха.

Определение влажности. Влажность рапсового жмыха определяли по ГОСТ Р 54705. Метод основан на высушивании пробы при температуре 130 ± 2 °С. Предварительно высушенные в сухожаровом шкафу (DaihanLabtech LDO-E, Южная Корея) при температуре 130 °С в течение 30 мин и охлажденные в эксикаторе в течение 40 мин алюминиевые бюксы взвешивали с закрытыми крышками на аналитических весах (AND GR-200, Япония). В бюксы отбирали по 5 г рапсового жмыха и распределяли тонким слоем по дну бюксы. Затем пробы с открытыми крышками помещали в сухожаровой шкаф при 130 °С и выдерживали в течение 40 мин. Далее бюксы с закрытыми крышками охлаждали в эксикаторе в течение 40 мин и взвешивали на аналитических весах.

Ферментация. Для проведения ферментации рапсовый жмых смешивали с дистиллированной водой в соотношении 1:9 (30 ± 1 г рапсового жмыха и 270 см^3 стерильной дистиллированной воды) в качалочных колбах Эрленмейера. Полученную суспензию выдерживали в шейкере-инкубаторе (INFORS HT multitron standard, Швейцария) при температуре 28 ± 1 °С и частотой вращения платформы 180 об/мин в течение 9 суток [11]. Надосадочную жидкость отбирали в стерильных условиях на 2, 5, 7 и 9 сутки ферментации.

Динамика изменения количества биомассы. Оптическую плотность полученных в результате ферментации проб на 2, 5, 7 и 9 сутки измеряли на спектрофотометре (Shimadzu UF-1800, Япония) при длине волны 600 нм и толщине проходящего слоя 1 см.

Выделение консорциумов. Колонии микроорганизмов получали методом поверхностного культивирования на плотной питательной среде – мясопептонном агаре (МПА; НИЦФ, Россия). Все манипуляции с микроорганизмами проводили в ламинарном боксе II класса биологической безопасности (ESCO Streamline®, Сингапур). Суспензию микроорганизмов, полученную в результате ферментации рапсового жмыха, разводили в 100, 1000 и 10 000 раз в стерильной дистиллированной воде. Далее 100 мкл разбавленной суспензии микроорганизмов вносили в чашку Петри со средой МПА и распределяли стерильным шпателем Дригальского в трех направлениях и двукратной повторности. Затем чашки Петри выдерживали в термостате (Memmert UF75, Германия) при температуре 28 ± 1 °С в течение 3 суток. В результате этого получали консорциумы нативной микробиоты рапсового жмыха на чашках Петри. Воздух в ламинарном боксе и качество стерилизации ультрафиолетовым излучением проверяли с использованием контрольных чашек без инокулята.

Морфологию колоний оценивали по следующим характеристикам: размер (диаметр) колонии, цвет, прозрачность, однородность, край, поверхность, форма и профиль [12].

Выделение изолятов. Из полученных консорциумов микроорганизмов случайным образом отбирали отдельные оформленные колонии и высевали на плотную питательную среду МПА методом истощающего штриха. Затем чашки Петри выдерживали в термостате при температуре 28 ± 1 °С в течение 3 суток. Пересев вели до тех пор, пока культура визуально не становилась однородной. Биомассу микроорганизмов собирали с чашек в конические микроцентрифужные пробирки типа Эппендорф с 1 мл стерильной дистиллированной воды и отправляли на хранение в морозильную камеру (POZIS ХЛ-250, Россия) при –20 ± 1 °С. Микроорганизмы, которые показали плохой рост на МПА, пересевали сначала на жидкую питательную среду Луриа-Бертани (LB: триптон 20 г/л, дрожжевой экстракт 10 г/л, натрия хлорид 20 г/л), а затем, если не наблюдался прирост биомассы, на жидкую среду Сабуро (пептон 10 г/л, глюкоза 20 г/л). Для этого в стерильные центрифужные пробирки типа Фалькон на 15 мл вносили 10 мл среды и 2 мл смыва с поверхности чашки Петри и выдерживали в термостате при

температуре 28 ± 1 °С в течение 3 суток. Если не наблюдался прирост биомассы, то выдерживали еще 3 суток при 37 ± 1 °С. Если при данных условиях рост усиливался, то биомассу отбирали путем центрифугирования в конические микроцентрифужные пробирки и хранили как описано ранее.

Метагеномный анализ. Полученные во время ферментации суспензии микроорганизмов на 2, 5, 7 и 9 сутки культивирования использовали для метагеномного анализа. Из них выделили образцы ДНК, из которых готовили индексированные библиотеки фрагментов генов 16S рРНК на вариабельный участок гена v4 с праймерами Ferier_F515 (5'-3') GTGCCAGCMGCCGCGGTAA/ Ferier_R806 (5'-3') GGACTACVSGGGTATCTAAT (Т отжига = 55 °С), полученные методом полимеразной цепной реакции (ПЦР). Очистку и анализ ампликонных библиотек для каждого образца провели методом высокопроизводительного секвенирования амплифицированнных фрагментов ДНК с обоих концов на секвенаторе Illumina MiSeq (Illumina.inc, США). Провели первичную биоинформационную обработку полученных данных с предоставлением результатов в виде таксономических диаграмм распределения микроорганизмов. Секвенирование и первичную обработку данных провели в Центре коллективного пользования научным оборудованием «Геномные технологии, протеомика и клеточная биология» Всероссийского научно-исследовательского института сельскохозяйственной микробиологии.

Результаты и их обсуждения

Влажность рапсового жмыха. В связи с рассыпчатой структурой рапсового жмыха, способной абсорбировать влагу из окружающей среды, важным показателем, который влияет на численность микроорганизмов нативной микробиоты, является влажность. По результатам измерений массовая доля влаги и летучих веществ составила 6,8 ± 0,3 %, что соответствует требованиям ГОСТ 11048, где массовая доля влаги должна находиться в пределах 6–9 %. Полученные данные свидетельствуют о том, что для исследуемого рапсового жмыха соблюдались правильные условия хранения по влажности, что влияет на его качество. В частности, позволяет снизить концентрацию микроорганизмов порчи, таких как плесневые грибы.

Динамика изменения количества биомассы в процессе ферментации представлена на рисунке 1.

Из графика видно, что оптическая плотность возрастает с течением времени ферментации, что свидетельствует об увеличении количества биомассы нативной микробиоты рапсового жмыха.

Выделение консорциумов. Группы микроорганизмов, выделенные в результате первичного анализа на основе морфологии колоний, представлены в таблице 1.

Выделенные колонии по морфологическим характеристикам были разделены на 16 групп. Большинство представленных групп обладает небольшими размерами

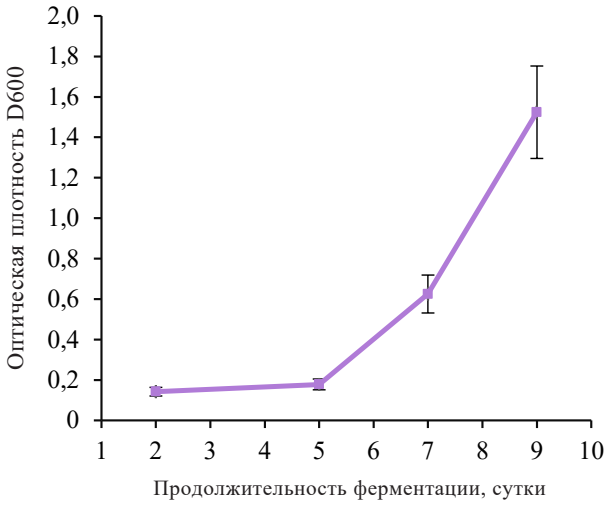


Рисунок 1. Динамика изменения количества биомассы в процессе ферментации рапсового жмыха

Figure 1. Biomass amount during rapeseed cake fermentation

(до 5 мм в диаметре), но встречаются колонии больших размеров (до 3 см в диаметре). Для большинства групп преобладает белый цвет колонии, но для некоторых колоний характерно наличие окрашивающих пигментов (розовый, оранжевый и желтый). Среди групп встречаются как полупрозрачные, так и непрозрачные колонии. Выделенные колонии отличались большим разнообразием краев: гладкие, реснитчатые, волнистые или лопастные. Глянцевая поверхность присуща большинству групп колоний, но также наблюдалась и матовая. Профили колоний выделенных групп отличались большим разнообразием: встречались как врастающие в агар, так и выпуклые каплевидные.

Преобладающими являлись 5 типов колоний, которые менялись с течением времени ферментации. Наибольшее количество наблюдается у колоний 1-ой группы – это белые полупрозрачные колонии с непрозрачным центром. Они встречаются во всех исследованных образцах, а их количество увеличивается с течением времени ферментации. Второй преобладающей по концентрации группой является 3 группа (белые непрозрачные выпуклые колонии), которая наблюдалась на протяжении всего периода ферментации в высоких концентрациях. Третьей по распространенности стала 8 группа колоний – это белые полупрозрачные колонии до 2 см в диаметре с каплевидным профилем. Также часто встречались бактерии 12 и 13 групп. Желтые и розовые колонии, а также белые полупрозрачные колонии с конусовидным профилем и диаметром до 10 мм встречались реже.

Выделение изолятов. Пример выделенного изолята из консорциума микроорганизмов методом истощающего штриха представлен на рисунке 2.

В процессе работы выделили 127 изолятов, 10 из которых показали недостаточный прирост биомассы на всех

Таблица 1. Характеристика морфологии колоний выделенных групп микроорганизмов из рапсового жмыха

Table 1. Morphology of microorganisms isolated from rapeseed cake

Группа	1	2	3	4	5	6	7	8
Размер колонии, мм	1–3	3–5	1–2	5–7	1–2	8–10	2–3	1–2
Цвет	Белый	Розовый	Белый	Белый	Желтый	Бежевый	Оранжевый	Белый
Прозрачность	Полупрозрачная	Непрозрачная	Непрозрачная	Полупрозрачная	Непрозрачная	Непрозрачная	Непрозрачная	Полупрозрачная
Однородность	Неоднородная (плотнее в центре)	Однородная	Однородная	Однородная	Однородная	Однородная	Однородная	Однородная
Край	Гладкий	Гладкий	Гладкий	Гладкий	Гладкий	Гладкий	Гладкий	Реснитчатый
Поверхность	Глянцевая	Глянцевая	Глянцевая	Глянцевая	Глянцевая	Глянцевая	Глянцевая	Матовая
Форма	Круглая	Круглая	Круглая	Круглая	Круглая	Концентрическая	Круглая	Круглая
Профиль	Конусовидный или выпуклый	Выпуклый	Выпуклый	Изогнутый, плоский	Выпуклый	Конусовидный	Выпуклый	Каплевидный, врастающий в агар

Группа	9	10	11	12	13	14	15	16
Размер колонии, мм	10–20	5–7	10–30	3–4	3–10	3–4	5–7	4–6
Цвет	Кремовый	Белый	Белый	Белый	Белый	Молочно-белый	Белый	Желто-лимонный
Прозрачность	Полупрозрачная	Непрозрачная	Полупрозрачная	Полупрозрачная	Непрозрачная	Полупрозрачная	Полупрозрачная	Непрозрачная
Однородность	Неоднородная (с плотным центром)	Неоднородная (морщинистая по краям)	Неоднородная (более плотная в центре)	Неоднородная (более плотная в центре)	Однородная	Неоднородная (более прозрачная в центре)	Однородная	Однородная
Край	Волнистый	Лопастной	Лопастной	Лопастной	Гладкий	Гладкий	Гладкий	Гладкий
Поверхность	Глянцевая	Матовая	Матовая	Глянцевая	Глянцевая	Глянцевая	Глянцевая	Глянцевая
Форма	Круглая с фестончатым краем	Ризоидная, складчатая	Ризоидная, складчатая	Круглая с фестончатым краем	Круглая	Круглая	Овальная или круглая	Круглая
Профиль	Выпуклый	Изогнутый	Изогнутый	Конусовидный	Выпуклый	Кратерообразный	Выпуклый	Плоский

используемых средах, в отличие от консорциумов, где данная группа колоний была преобладающей (белые полупрозрачные у края колонии до 5 мм в диаметре).

Метагеномный анализ. Данные о типах бактерий, которые обнаружили при ферментации рапсового жмыха под влиянием нативной микробиоты, полученные в результате метагеномного анализа с помощью NGS-секвенирования, представлены на рисунке 3.

Из рисунка 3 видно, что преобладающим типом бактерий в течение времени ферментации были *Firmicutes*. Содержание данных бактерий в большинстве рассматриваемых образцов оказалось более 70 %. Тип *Firmicutes* состоит из 26 семейств и 223 родов. Для данного типа характерна жесткая клеточная стенка, которая содержит мурамовую кислоту, хотя встречаются бактерии с тейховой кислотой. Большинство представителей является грамположительными бактериями, но есть и грамотрицательные (*Veillonellaceae* и *Syntrophomonadaceae*). По фенотипу выделяют клетки сферической, прямой или изогнутой формы, со спиралевидными стержнями или нитями, жгутиками или без них, термостойкими эндоспорами или без них. По отношению к кислороду встречаются как аэробы, так и строгие анаэробы. Встречаются термофилы и галофилы. Большинство из них – хемоорганотрофы, некоторые – аноксигенные фотогетеротрофы. Они растут при нейтральном pH, а некоторые являются ацидофилами или алкалофилами. Отличительной генетической характеристикой данного типа является содержание гуанинцитозиновых пар (ГЦ-пар) в ДНК менее 50 мол.% [13, 14]. При исследовании почвенной микробиоты сои (маслосодержащее растение) было обнаружено присутствие фирмикутных бактерий в небольших количествах [15]. При метагеномном анализе семян 50 видов растений данный тип встречался в меньших количествах для рапса, чем для других исследуемых видов растений [16].



Рисунок 2. Выделенный изолят микроорганизмов методом истощающего штриха

Figure 2. Microorganisms isolated by depletion streaking

Вторым преобладающим типом был *Proteobateria*. Около 30 % бактерий из обнаруженных на 2, 5 и 9 сутки относились к этому типу. На 7-е сутки количество данного типа бактерий составил 43,1 %. В домене *Bacteria* тип *Proteobacteria* составляет крупную и фенотипически разнообразную филогенетическую линию. Всего выделяют 5 основных классов: альфапротеобактерии, бетапротеобактерии, гаммапротеобактерии, дельтапротеобактерии и эпсилонпротеобактерии. К данному типу относится большинство грамотрицательных микроорганизмов, которые отличаются широким разнообразием метаболических путей. Некоторые роды внутри данного типа имеют экологическое значение, поскольку играют ключевые роли в круговороте углерода, серы и азота на планете. *Proteobacteria* характеризуются разнообразием морфологических и физиологических типов [17]. Встречаются палочки, кокки, изогнутые, спиральные, кольцевидные, придаточные, нитевидные и оболочечные формы. Большинство *Proteobacteria* относится к мезофилам, но описаны некото-



Таксономия	2-е сутки	5-е сутки	7-е сутки	9-е сутки
Bacteria;Actinobacteriota	0.1%	0.0%	0.0%	0.8%
Bacteria;Bacteroidota	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%
Bacteria;Campilobacterota	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%
Bacteria;Deinococcota	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%
Bacteria;Firmicutes	70.5%	70.6%	56.9%	71.2%
Bacteria;Fusobacteriota	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%
Bacteria;Patescibacteria	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%
Bacteria;Proteobacteria	29.4%	29.0%	43.1%	28.0%
Bacteria;unclassified_Bacteria	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%
Unclassified;Other	0.0%	0.3%	0.0%	0.0%

Рисунок 3. Распределение бактерий нативной микробиоты рапсового жмыха по типам

Figure 3. Types of native microbiota in rapeseed cake

рые термофильные (*Thiomonas thermosulfata* и *Tepidomonas*) и психрофильные (*Polaromonas*) представители. Бактерии данного типа имеют подвижность из-за различных механизмов: от жгутиков до скользящего движения. Встречаются как свободноживущие, так и симбиотические организмы, такие как клубеньковые азотфиксаторы или внутриклеточные эндосимбионты простейших, а также облигатные внутриклеточные паразиты человека и млекопитающих. По типу питания они бывают хемоорганотрофами (*Escherichia coli*), хемолитотрофами (бактерии, окисляющие серу (*Thiobacillus*), и бактерии, окисляющие аммиак (*Nitrosomonas*)) или фототрофами (пурпурный *Chromatium* и *Rhodospirillum*). По отношению к кислороду данный тип включает строго аэробные и анаэробные виды, а также факультативные аэробы и микроаэрофилы [18]. *Proteobacteria* был обнаружен в больших количествах (25 %) при исследовании ризосферного сообщества рапса (*Brassica napus*) [19]. Данный тип являлся преобладающим при изучении почвенной микробиоты сои [15]. В исследовании нативной микробиоты семян различных растений было обнаружено преобладающее содержание *Proteobacteria* для большинства растений, включая рапс (более 70 %) [16].

На 2-е и 9-е сутки в малых количествах обнаружены ДНК бактерий типа *Actinobacteriota* (менее 1 %). Актинобактерии представляют собой грамположительные организмы, которые характеризуются высоким соотношением ГЦ-пар и большими геномами (более 8 Мб). Отличительной чертой данного типа является нитевидная форма клеток. Тип *Actinobacteriota* включает 6 классов, 6 порядков, 14 подотрядов и 56 семейств. Актинобактерии являются автохтонными обитателями почвы и моря, часто входят в состав доминирующей популяции их экосистем, а также могут встречаться в экстремальных условиях. Представители данного типа получили свою известность благодаря продуцированию различных антибиотиков, таких как стрептомицин. Однако некоторые известны как патогены человека и животных, которые вызывают такие болезни, как туберкулез. Многие из актинобактерий являются свободноживущими почвенными бактериями. Также к этой группе относятся патогенные или сапрофитные организмы, встречаются симбиотические виды. Характерной чертой большого числа представителей актинобактерий является образование спороносных органов (конидии, спорангии и одиночные споры на спорофорах). Некоторые актинобактерии относятся к экстремофилам. Они встречаются в пустынях, полярных районах, кислых и щелочных почвах, глубоко под водой и в других экстремальных зонах [20]. Актинобактерии являются богатым источником вторичных метаболитов. Кроме того, многие представители различных подотрядов, относясь к сапрофитам, способны разлагать различные углеводородные соединения, включая полимеры (целлюлоза, гемицеллюлозы, хитин и лигнин) [21]. Полученные значения отличаются от данных, полученных при исследовании ризосферы рапсового жмыха, где тип *Actinobacteriota* являлся преобладающим среди других обнаруженных бактерий (21–24 %) [19]. Большой процент содержания актинобактерий обнаружили при исследовании микробиома ризосферы сои [15]. Микробиота семян рапса также содержала в своем составе некоторое количество актинобактерий [16].

Распределение бактерий нативной микробиоты рапсового жмыха по классам представлено на рисунке 4.



Таксономия	2-е сутки	5-е сутки	7-е сутки	9-е сутки
Bacteria;Actinobacteriota;Acidimicrobiia	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%
Bacteria;Actinobacteriota;Actinobacteria	0.1%	0.0%	0.0%	0.8%
Bacteria;Bacteroidota;Bacteroidia	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%
Bacteria;Campilobacterota;Campylobacteria	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%
Bacteria;Deinococcota;Deinococci	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%
Bacteria;Firmicutes;Bacilli	70.5%	70.6%	45.7%	51.4%
Bacteria;Firmicutes;Clostridia	0.0%	0.0%	11.2%	19.7%
Bacteria;Firmicutes;Negativicutes	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%
Bacteria;Fusobacteriota;Fusobacteriia	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%
Bacteria;Patescibacteria;Saccharimonadia	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%
Bacteria;Proteobacteria;Alphaproteobacteria	0.0%	0.0%	0.0%	0.1%
Bacteria;Proteobacteria;Gammaproteobacteria	29.4%	29.0%	43.1%	27.9%
Bacteria;unclassified_Bacteria;Other	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%
Unclassified;Other;Other	0.0%	0.3%	0.0%	0.0%

Рисунок 4. Распределение бактерий нативной микробиоты рапсового жмыха по классам

Figure 4. Classes of native microbiota in rapeseed cake

Среди классов прокариот наиболее встречающимся являлся класс *Bacilli*. Он характерен для всех суток ферментации в больших количествах (до 70,6 % на 5-е сутки). Классы *Bacilli* и *Clostridia* являются сестринскими классами и имеют ряд филогенетических свойств, их лучше рассматривать вместе. Эти классы характеризуются грамположительными видами бактерий, которые имеют низкий коэффициент ГЦ-пар. Это признак, отличающий эту группу от класса *Actinobacteria*, представители которого являются грамположительными с высоким коэффициентом ГЦ-пар [20]. Бактерии классов *Clostridia* и *Bacilli* обладают склонностью к синтезу биологически активных химических веществ, которые входят в состав сильнодействующих токсинов (ботулинический токсин и тетаноспазмин). Члены классов *Bacilli* и *Clostridia* представлены короткими палочками (бациллы) или круглыми (кокки), анаэробными и способными образовывать эндоспоры. Образование эндоспор, хоть и не присутствует у всех представителей классов *Bacilli* и *Clostridia*, никогда не наблюдается за пределами этих классов. Бактериальные эндоспоры представляют собой защитный механизм клетки в ответ на неблагоприятные условия среды. Упрощенные формы бактерий состоят из генома ДНК, небольшого количества цитоплазмы и специального покрытия, придающего устойчивость к теплу, радиации и другим неблагоприятным внешним условиям. Из-за их высокой устойчивости и способности расти в анаэробных условиях в течение длительного времени виды, относящиеся к патогенам, являются одними из наиболее опасных бактерий для здоровья человека и животных [22]. Данный факт осложняется тем, что многие виды класса *Bacilli* обладают антибиотикорезистентностью [23]. Некоторые термофильные и мезофильные виды класса *Bacilli*, такие как *Anoxybacillus flavithermus* и *Geobacillus* spp., выступают организмами порчи молочной продукции [24]. Виды *Bacillus thuringiensis*, *Bacillus amyloliquefaciens* и *Bacillus subtilis* могут выступать в качестве биофунгицидов и биопестицидов, а также помогать в борьбе с бактериальными фитопатогенами [25]. Среди видов класса *Clostridia* наблюдается несколько азотфиксаторов: *Clostridium acetobutylicum*, *Clostridium beijerinckii*, *Clostridium butyricum* и *Clostridium pasteurianum* [26]. *Clostridia* могут образовывать кислоты, такие как уксусная, пропионовая и масляная, а в качестве продуктов – формиат, лактат, сукцинат и капроат. *Clostridia*, ферментирующие аминокислоты, продуцируют валерат, изовалерат, изобутират и другие промышленно важные кислоты. Регулируя параметры микробиологического синтеза, можно добиться высоких выходов кислот, снижая выход растворителей, таких как этанол, ацетон и бутанол, которые образуются параллельно с кислотами [27]. Представители данных классов не наблюдались при исследовании почвенной микробиоты сои [15].

Среди *Proteobateria* выделяется класс *Gammaproteobacteria*, который составляет около 30 % от всех выявленных классов на 2, 5 и 9-е сутки, тогда как на 7-е сутки его значение достигает 43,1 %. Члены класса *Gammaproteobacteria* имеют сходство в своей рибосомальной РНК и являются грамотрицательными, как и все подклассы класса *Proteobacteria*. *Gammaproteobacteria* обладают различными свойствами: одни являются аэробными, другие анаэробными; могут встречаться палочки, кокки и спиралевидные формы, а также разные по размеру колонии [28, 29]. Класс *Gammaproteobacteria* был обнаружен в большом количестве в почве сои [15].

Около 1 % в сумме составляют классы *Actinobacteria* и *Alphaproteobacteria*. Особенности *Actinobacteria* в рамках типа обсуждались выше. *Alphaproteobacteria* являются грамотрицательными бактериями, характеризуются небольшим размером и тесной связью с эукариотическими клетками. *Alphaproteobacteria* живут как симбионты, эндосимбионты или как внутриклеточные паразиты. Основываясь на сходстве последовательностей между *Alphaproteobacteria* и эукариотическими митохондриями, было высказано предположение о том, что эукариотические митохондрии произошли от эндосимбиотического члена класса *Alphaproteobacteria*. Существует два основных подкласса *Alphaproteobacteria*: *Rhizobiales* и *Rickettsiales*. Класс *Rhizobiales* содержит азотфиксирующие бактерии, которые живут в симбиотических отношениях с корнями растений. Класс *Rhizobiales* включает два патогенных для человека рода: *Bartonella* и *Brucella* [30]. Почвенная микробиота сои, напротив, содержит преобладающее количество *Alphaproteobacteria* в составе микробиоты, что связано с симбиотическими отношениями между соей и бактериями данного класса [15].

Порядки обнаруженных бактерий представлены на рисунке 5.

В результате исследования в рапсовом жмыхе выявили 21 порядок бактерий. Среди преобладающего класса *Bacilli* обнаружили следующие порядки: *Lactobacillales* (максимальное значение на 2-е сутки культивирования – 70,5 %), *Bacillales* (наибольшее количество на 2-е сутки культивирования – 4,2 %, затем значение колеблется в пределах 1 %), *Paenibacillales* (процент содержания данного порядка возрастает в процессе культивирования до 17,6 % на 9-е сутки), *Brevibacillales* (в сумме менее 1 % в течение всего периода ферментации) и *Staphylococcales* (значение снижается в процессе культивирования, максимально – 0,2 % на 2-е сутки).

Из определенных в результате метагеномного анализа порядков пять относятся к типу *Proteobateria*. Из них только *Rhizobiales* (в процессе ферментации возрастает до 0,1 %) относится к *Alphaproteobacteria*. Остальные порядки – это *Burkholderiales* (количество снижается с течением времени культивирования, максимальное значение на первые 2-е сутки ферментации – 26,7 %), *Pseudomonadales* (максимальное значение на 7-е сутки – 40,6 %), *Enterobacterales* (максимальное значение на 2-е сутки – 0,2 %) и *Xanthomonadale*s (определены в количестве менее 1 % на 2-е сутки). К



Таксономия	2-е сутки	5-е сутки	7-е сутки	9-е сутки
Bacteria;Actinobacteriota;Actinobacteria;Actinomycetales	0.0%	0.0%	0.0%	0.2%
Bacteria;Actinobacteriota;Actinobacteria;Bifidobacteriales	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%
Bacteria;Actinobacteriota;Actinobacteria;Corynebacteriales	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%
Bacteria;Actinobacteriota;Actinobacteria;Micrococcales	0.1%	0.0%	0.0%	0.0%
Bacteria;Actinobacteriota;Actinobacteria;Propionibacteriales	0.0%	0.0%	0.0%	0.5%
Bacteria;Bacteroidota;Bacteroidia;Sphingobacteriales	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%
Bacteria;Firmicutes;Bacilli;Bacillales	4.2%	0.1%	0.2%	1.0%
Bacteria;Firmicutes;Bacilli;Brevibacillales	0.0%	0.0%	0.0%	0.4%
Bacteria;Firmicutes;Bacilli;Lactobacillales	66.0%	70.5%	41.3%	32.5%
Bacteria;Firmicutes;Bacilli;Paenibacillales	0.0%	0.0%	4.2%	17.6%
Bacteria;Firmicutes;Bacilli;Staphylococcales	0.2%	0.1%	0.0%	0.0%
Bacteria;Firmicutes;Bacilli;unclassified_Bacilli	0.1%	0.0%	0.0%	0.0%
Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales	0.0%	0.0%	11.1%	19.1%
Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Lachnospirales	0.0%	0.0%	0.0%	0.6%
Bacteria;Proteobacteria;Alphaproteobacteria;Rhizobiales	0.0%	0.0%	0.0%	0.1%
Bacteria;Proteobacteria;Gammaproteobacteria;Burkholderiales	26.7%	5.5%	2.4%	1.4%
Bacteria;Proteobacteria;Gammaproteobacteria;Enterobacterales	0.2%	0.1%	0.0%	0.0%
Bacteria;Proteobacteria;Gammaproteobacteria;Pseudomonadales	2.4%	23.4%	40.6%	26.4%
Bacteria;Proteobacteria;Gammaproteobacteria;Xanthomonadales	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%
Bacteria;unclassified_Bacteria;Other;Other	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%
Unclassified;Other;Other;Other	0.0%	0.3%	0.0%	0.0%

Рисунок 5. Распределение бактерий нативной микробиоты рапсового жмыха по порядкам

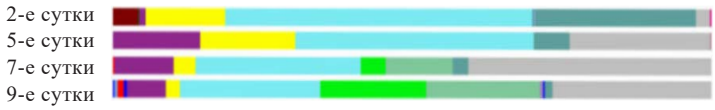
Figure 5. Orders of native microbiota in rapeseed cake

классу *Clostridia* относятся два обнаруженных порядка: *Clostridiales* с высоким содержанием (до 19,1 % на 9-е сутки ферментации) и *Lachnospirales* (до 0,6 % на 9-е сутки). *Actinobacteria* представляют малочисленную группу, среди которой определено 5 порядков (*Actinomycetales*, *Bifidobacteriales*, *Corynebacteriales*, *Micrococcales* и *Propionibacteriales*) с содержанием менее 1 % в течение всего периода ферментации. Порядок *Sphingobacteriales* принадлежит к классу *Bacteroidia*, его содержание незначительно – менее 1 % на 2-е сутки культивирования.

Распределение бактерий нативной микробиоты рапсового жмыха по семействам в результате метагеномного анализа представлено на рисунке 6.

Из рисунка 6 видно, что класс *Gammaproteobacteria* представлен 7 семействами. Порядок *Burkholderiales* представлен 2 семействами – *Comamonadaceae* и *Oxalobacteraceae*, содержание которых максимально на 2-е сутки ферментации (26,7 и менее 1 % соответственно) и снижается с течением времени. Менее 1 % по содержанию представлены бактерии порядка *Enterobacterales* с семейством *Enterobacteriaceae*. К порядку *Pseudomonadales* относятся два обнаруженных семейства: *Moraxellaceae* с относительно высоким процентным содержанием (до 40,6 % на 7-е сутки) и *Pseudomonadaceae* (0,1 % на 2-е сутки ферментации). *Xanthomonadaceae* – это семейство, относящееся к порядку *Xanthomonadales*, его относительное содержание менее 1 %. К классу *Alphaproteobacteria* принадлежит только одно обнаруженное семейство. *Rhizobiaceae* содержится в количестве менее 1 % для всех исследованных суток. К классу *Clostridia* относятся два обнаруженных семейства: *Lachnospiraceae* из порядка *Lachnospirales* (содержание 0,6 % на 9-е сутки) и *Clostridiaceae* из порядка *Clostridiales* (значение возрастает до 19,1 % на 9-е сутки). Десять из выявленных семейств относятся к отряду *Bacilli*. Из них к порядку *Bacillales* относятся два семейства – *Bacillaceae* (количество снижается во время ферментации, максимально – 4,2 % на 2-е сутки) и *Planococcaceae* (содержание менее 1 %), а также до 1 % составили неклассифицированные бактерии этого порядка. К порядку *Brevibacillales* относится одно выделенное семейство – *Brevibacillaceae* (максимальное содержание 0,4 % на 9-е сутки).

Большинство выделенных семейств из отряда *Bacilli* принадлежит к порядку *Lactobacillales*. Они также представляют многочисленную группу из всех обнаруженных микроорганизмов. Из них наибольшее содержание составляет семейство *Leuconostocaceae* (51,4 % на 2-е сутки ферметации). Вторым по встречаемости семейством является *Lactobacillaceae* (максимальное процентное содержание 15,7 % на 5-е сутки ферментации). Процентное содержание семейства *Enterococcaceae* максимально на 5-е сутки – 14,6 %. В небольших количествах на ранних периодах ферментации



Таксономия	2-е сутки	5-е сутки	7-е сутки	9-е сутки
Bacteria;Actinobacteriota;Actinobacteria;Actinomycetales;Actinomycetaceae	0.0%	0.0%	0.0%	0.2%
Bacteria;Actinobacteriota;Actinobacteria;Bifidobacteriales;Bifidobacteriaceae	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%
Bacteria;Actinobacteriota;Actinobacteria;Corynebacteriales;Corynebacteriaceae	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%
Bacteria;Actinobacteriota;Actinobacteria;Micrococcales;Microbacteriaceae	0.1%	0.0%	0.0%	0.0%
Bacteria;Actinobacteriota;Actinobacteria;Micrococcales;Micrococcaceae	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%
Bacteria;Actinobacteriota;Actinobacteria;Propionibacteriales;Propionibacteriaceae	0.0%	0.0%	0.0%	0.5%
Bacteria;Bacteroidota;Bacteroidia;Sphingobacteriales;Sphingobacteriaceae	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%
Bacteria;Firmicutes;Bacilli;Bacillales;Bacillaceae	4.2%	0.0%	0.0%	0.0%
Bacteria;Firmicutes;Bacilli;Bacillales;Planococcaceae	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%
Bacteria;Firmicutes;Bacilli;Bacillales;unclassified_Bacillales	0.0%	0.0%	0.2%	1.0%
Bacteria;Firmicutes;Bacilli;Brevibacillales;Brevibacillaceae	0.0%	0.0%	0.0%	0.4%
Bacteria;Firmicutes;Bacilli;Lactobacillales;Enterococcaceae	1.1%	14.6%	10.1%	6.7%
Bacteria;Firmicutes;Bacilli;Lactobacillales;Lactobacillaceae	13.2%	15.7%	3.5%	2.2%
Bacteria;Firmicutes;Bacilli;Lactobacillales;Leuconostocaceae	51.4%	39.9%	27.7%	23.6%
Bacteria;Firmicutes;Bacilli;Lactobacillales;Listeriaceae	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%
Bacteria;Firmicutes;Bacilli;Lactobacillales;Streptococcaceae	0.3%	0.2%	0.0%	0.0%
Bacteria;Firmicutes;Bacilli;Paenibacillales;Paenibacillaceae	0.0%	0.0%	4.2%	17.6%
Bacteria;Firmicutes;Bacilli;Staphylococcales;Staphylococcaceae	0.2%	0.1%	0.0%	0.0%
Bacteria;Firmicutes;Bacilli;unclassified_Bacilli;Other	0.1%	0.0%	0.0%	0.0%
Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Clostridiaceae	0.0%	0.0%	11.1%	19.1%
Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Lachnospirales;Lachnospiraceae	0.0%	0.0%	0.0%	0.6%
Bacteria;Proteobacteria;Alphaproteobacteria;Rhizobiales;Rhizobiaceae	0.0%	0.0%	0.0%	0.1%
Bacteria;Proteobacteria;Gammaproteobacteria;Burkholderiales;Comamonadaceae	26.7%	5.5%	2.4%	1.4%
Bacteria;Proteobacteria;Gammaproteobacteria;Burkholderiales;Oxalobacteraceae	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%
Bacteria;Proteobacteria;Gammaproteobacteria;Enterobacterales;Enterobacteriaceae	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%
Bacteria;Proteobacteria;Gammaproteobacteria;Enterobacterales;unclassified_Enterobacterales	0.2%	0.0%	0.0%	0.0%
Bacteria;Proteobacteria;Gammaproteobacteria;Pseudomonadales;Moraxellaceae	2.3%	23.4%	40.6%	26.4%
Bacteria;Proteobacteria;Gammaproteobacteria;Pseudomonadales;Pseudomonadaceae	0.1%	0.0%	0.0%	0.0%
Bacteria;Proteobacteria;Gammaproteobacteria;Xanthomonadales;Xanthomonadaceae	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%
Bacteria;unclassified_Bacteria;Other;Other;Other	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%
Unclassified;Other;Other;Other;Other	0.0%	0.3%	0.0%	0.0%

Рисунок 6. Распределение бактерий нативной микробиоты рапсового жмыха по семействам

Figure 6. Families of native microbiota in rapeseed cake

обнаружены семейства *Listeriaceae* и *Streptococcaceae* (до 0,3 %). *Paenibacillaceae* из порядка *Paenibacillales* повышает свое процентное содержание во время ферментации до 17,6 % на 9-е сутки ферментации. Порядок *Staphylococcales* представлен одним семейством – *Staphylococcaceae* (максимально 0,2 % на 2-е сутки, затем содержание снижается в процессе ферментации). Семейство *Sphingobacteriaceae* из порядка *Sphingobacteriales* обнаружено только на 2-е сутки ферментации в содержании менее 1 %. В относительно низких концентрациях выявлены семейства из класса *Actinobacteria*: *Actinomycetaceae*, *Bifidobacteriaceae*, *Corynebacteriaceae* и *Propionibacteriaceae* из порядков *Actinomycetales*, *Bifidobacteriales*, *Corynebacteriales* и *Propionibacteriales* соответственно. Порядок *Micrococcales* включает два обнаруженных семейства – *Microbacteriaceae* и *Micrococcaceae*.

Всего в результате метагеномного анализа бактерий нативной микробиоты рапсового жмыха выявлено 28 родов, а также 8 неклассифицированных родов. Таксономия обнаруженных родов представлена на рисунке 7.

В результате анализа выявлено, что род *Bacillus* в наибольшем количестве представлен на 2-е сутки ферментации (4,2 %). Данный род – это аэробные палочки, способные к образованию эндоспор при неблагоприятных условиях. Представители рода *Bacillus* применяются в сельском хозяйстве, экологии, промышленности и медицине. Способность к спорообразованию дает роду *Bacillus* преимущество перед другими биотехнологически важными родами, поскольку препараты на основе спор хранятся в течение длительного периода времени и хорошо переносят неблагоприятные условия хранения. Многие виды *Bacillus* коммерчески используются в качестве фитостимуляторов и биоудобрений. Бактерии *Bacillus*, стимулирующие рост растений, позволяют им подавлять патогены (биоконтроль) [31]. Виды *Bacillus* повсеместно распростра-



Таксономия	2-е сутки	5-е сутки	7-е сутки	9-е сутки
Bacteria;Actinobacteriota;Actinobacteria;Actinomycetales;Actinomycetaceae;Actinomyces	0.0%	0.0%	0.0%	0.2%
Bacteria;Actinobacteriota;Actinobacteria;Bifidobacteriales;Bifidobacteriaceae;Neoscardovia	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%
Bacteria;Actinobacteriota;Actinobacteria;Corynebacteriales;Corynebacteriaceae;Corynebacterium	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%
Bacteria;Actinobacteriota;Actinobacteria;Micrococcales;Microbacteriaceae;unclassified_Microbacteriaceae	0.1%	0.0%	0.0%	0.0%
Bacteria;Actinobacteriota;Actinobacteria;Micrococcales;Micrococcaceae;Kocuria	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%
Bacteria;Actinobacteriota;Actinobacteria;Propionibacteriales;Propionibacteriaceae;Tessaracoccus	0.0%	0.0%	0.0%	0.5%
Bacteria;Actinobacteriota;Actinobacteria;Propionibacteriales;Propionibacteriaceae;unclassified_Propionibacteriaceae	0.0%	0.0%	0.0%	0.1%
Bacteria;Bacteroidota;Bacteroidia;Sphingobacteriales;Sphingobacteriaceae;Sphingobacterium	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%
Bacteria;Firmicutes;Bacilli;Bacillales;Bacillaceae;Bacillus	4.2%	0.0%	0.0%	0.0%
Bacteria;Firmicutes;Bacilli;Bacillales;Planococcaceae;unclassified_Planococcaceae	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%
Bacteria;Firmicutes;Bacilli;Bacillales;unclassified_Bacillales;Other	0.0%	0.0%	0.2%	1.0%
Bacteria;Firmicutes;Bacilli;Brevibacillales;Brevibacillaceae;Brevibacillus	0.0%	0.0%	0.0%	0.4%
Bacteria;Firmicutes;Bacilli;Lactobacillales;Enterococcaceae;Enterococcus	1.1%	14.6%	10.1%	6.7%
Bacteria;Firmicutes;Bacilli;Lactobacillales;Lactobacillaceae;Lactobacillus	13.0%	15.7%	3.5%	2.2%
Bacteria;Firmicutes;Bacilli;Lactobacillales;Lactobacillaceae;Pediococcus	0.1%	0.0%	0.0%	0.0%
Bacteria;Firmicutes;Bacilli;Lactobacillales;Lactobacillaceae;unclassified_Lactobacillaceae	0.1%	0.0%	0.0%	0.0%
Bacteria;Firmicutes;Bacilli;Lactobacillales;Leuconostocaceae;Leuconostoc	5.3%	10.7%	15.1%	12.8%
Bacteria;Firmicutes;Bacilli;Lactobacillales;Leuconostocaceae;Weissella	45.8%	29.0%	12.4%	10.4%
Bacteria;Firmicutes;Bacilli;Lactobacillales;Leuconostocaceae;unclassified_Leuconostocaceae	0.3%	0.2%	0.2%	0.4%
Bacteria;Firmicutes;Bacilli;Lactobacillales;Listeriaceae;Brochothrix	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%
Bacteria;Firmicutes;Bacilli;Lactobacillales;Streptococcaceae;Lactococcus	0.3%	0.2%	0.0%	0.0%
Bacteria;Firmicutes;Bacilli;Paenibacillales;Paenibacillaceae;Paenibacillus	0.0%	0.0%	4.1%	16.3%
Bacteria;Firmicutes;Bacilli;Paenibacillales;Paenibacillaceae;unclassified_Paenibacillaceae	0.0%	0.0%	0.1%	1.3%
Bacteria;Firmicutes;Bacilli;Staphylococcales;Staphylococcaceae;Staphylococcus	0.2%	0.1%	0.0%	0.0%
Bacteria;Firmicutes;Bacilli;unclassified_Bacilli;Other;Other	0.1%	0.0%	0.0%	0.0%
Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Clostridiaceae;Clostridium sensu stricto 1	0.0%	0.0%	5.3%	4.6%
Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Clostridiaceae;Clostridium sensu stricto 13	0.0%	0.0%	0.9%	0.2%
Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Clostridiaceae;Clostridium sensu stricto 3	0.0%	0.0%	0.8%	2.0%
Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Clostridiaceae;unclassified_Clostridiaceae	0.0%	0.0%	4.1%	12.4%
Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Lachnospirales;Lachnospiraceae;Lachnoclostridium	0.0%	0.0%	0.0%	0.6%
Bacteria;Proteobacteria;Alphaproteobacteria;Rhizobiales;Rhizobiaceae;Ensifer	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%
Bacteria;Proteobacteria;Alphaproteobacteria;Rhizobiales;Rhizobiaceae;Ochrobactrum	0.0%	0.0%	0.0%	0.1%
Bacteria;Proteobacteria;Gammaproteobacteria;Burkholderiales;Comamonadaceae;Paucibacter	26.7%	5.5%	2.4%	1.4%
Bacteria;Proteobacteria;Gammaproteobacteria;Burkholderiales;Oxalobacteraceae;Janthinobacterium	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%
Bacteria;Proteobacteria;Gammaproteobacteria;Enterobacterales;Enterobacteriaceae;unclassified_Enterobacteriaceae	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%
Bacteria;Proteobacteria;Gammaproteobacteria;Enterobacterales;unclassified_Enterobacterales;Other	0.2%	0.0%	0.0%	0.0%
Bacteria;Proteobacteria;Gammaproteobacteria;Pseudomonadales;Moraxellaceae;Acinetobacter	2.3%	23.4%	40.6%	26.4%
Bacteria;Proteobacteria;Gammaproteobacteria;Pseudomonadales;Pseudomonadaceae;Pseudomonas	0.1%	0.0%	0.0%	0.0%
Bacteria;Proteobacteria;Gammaproteobacteria;Xanthomonadales;Xanthomonadaceae;Stenotrophomonas	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%
Bacteria;unclassified_Bacteria;Other;Other;Other;Other	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%
Unclassified;Other;Other;Other;Other;Other	0.0%	0.3%	0.0%	0.0%

Рисунок 7. Распределение бактерий нативной микробиоты рапсового жмыха по родам

Figure 7. Genera of native microbiota in rapeseed cake

нены в природе, но в более высоких концентрациях обнаруживаются в почве, воде и пищевых продуктах растительного происхождения. Штаммы *Bacillus* являются потенциальными кандидатами для использования в качестве пробиотиков [32]. Метаболически виды *Bacillus* очень активны. Предыдущие исследования выявили ряд полезных ферментов и антибиотиков, которые они производят [33]. Известно о синтезе большого количества липолитических ферментов представителями данного рода [34].

Значительную по процентному содержанию группу обнаруженных бактерий представляют *Enterococcus* (максимальное значение 14,6 % на 5-е сутки ферментации) – грамположительные факультативно анаэробные кокки с короткими и средними цепочками. *Enterococcus* встречаются в почве, воде, пищевых продуктах, сточных водах, растениях, коже человека, полости рта и толстом кишечнике. *Enterococcus* обладают высокой устойчивостью и могут выживать в сложных условиях среды, что делает их опасными организмами для человека. Некоторые штаммы обладают антибиотикорезистентностью. Например, к ванкомицину [35]. *Enterococcus* известны за свою способность к синтезу молочной кислоты [36, 37].

До 15,7 % на 5-е сутки культивирования принадлежит роду *Lactobacillus*. Представители этого рода не образуют спор, имеют палочковидную форму, часто организованны в цепочки, хотя могут наблюдаться

коккобациллы. Оптимум температуры составляет от 30 до 40 °С. Показатель кислотности среды варьируется от 3 до 8. По отношению к кислороду бактерии являются анаэробами или микроаэрофилами. В качестве основного продукта брожения производят молочную кислоту [38]. *Lactobacillus* известны как пробиотики, которые положительно влияют на здоровье человека из-за их способности продуцировать экзополисахариды. Экзополисахаридпродуцирующие виды *Lactobacillus* используются в качестве заквасочных культур для производства ферментированных пищевых продуктов [39]. Виды *Lactobacillus* обладают большей липазной активностью по сравнению с *Bacillus* sp. и *Pseudomonas* sp. [40].

Род *Leuconostoc* был обнаружен для всех исследованных образцов с максимальным содержанием на 7-е сутки ферментации – 15,1 %. Представители рода – это грамположительные факультативно-анаэробные неспорообразующие неподвижные молочнокислые гетероферментативные бактерии. Большинство штаммов *Leuconostoc* имеет сферическую морфологию, которая варьируется в зависимости от условий культивирования и представляет собой одиночные клетки или цепочки [41]. *Leuconostoc* является основным родом бактерий в ферментированных пищевых продуктах. *Leuconostoc* продуцируют молочную и уксусную кислоты, углекислый газ, этиловый спирт, декстран, эфиры, ароматические вещества ацетоин и диацетил, т. к. являются гетероферментативными бактериями. Низкомолекулярные органические соединения, производимые *Leuconostoc*, придают ферментированным продуктам вкус и аромат [42]. Представители данного рода способны продуцировать липазы [43].

Наибольшее процентное содержание в течение всего периода ферментации принадлежит роду *Weissella*. Бактерии данного рода являются факультативными анаэробами, клетки имеют яйцевидную форму или форму коротких палочек, встречаются парами или короткими цепочками. Штаммы *Weissella* были выделены из различных природных источников, в том числе из ферментированных пищевых продуктов. Для данного рода характерен гексозомонофосфатный и фосфокетолазный путь, конечными продуктами которых являются молочная и уксусная кислоты, углекислый газ и этанол. Оптимум температур приходится на интервал от 15 до 37 °С, но некоторые штаммы *Weissella cibaria* и *Weissella confusa* способны расти при 45 °С [44, 45].

Процентное содержание рода *Paenibacillus* увеличивалось в течение ферментации и на 9-е сутки составило 16,3 %. *Paenibacillus* имеют палочковидную форму. Грамположительные факультативно анаэробные или строго аэробные бактерии подвижны за счет перитрехиальных жгутиков. Большинство видов каталазоположительно. Колонии обычно гладкие и полупрозрачные светло-коричневого, белого или розового цвета. Оптимум температуры находится в интервале от 28 до 40 °С, pH – 7, но некоторые виды являются как алкалофильными, так и ацидофильными. Представители этого рода известны как азотфиксаторы, солюбилизаторы фосфатов, продуценты антимикробных соединений и различных экзополисахаридов. Также сообщается об их способности к деградации некоторых ксенобиотиков. Некоторые виды рода способны к биоконтролю и биоремедиации, а также могут выступать как стимуляторы роста растений. Кроме того, виды *Paenibacillus* продуцируют различные ферменты, такие как протеазы, липазы, амилазы, целлюлазы и гемицеллюазы, которые могут применяться в промышленных процессах [46–48].

Роды *Clostridium sensu stricto*, относящиеся к истинным клостридиям, в небольших количествах присутствовали на 7-е и 9-е сутки ферментации. Для представителей рода *C. sensu stricto* характерно присутствие мезодиаминопимелиновой кислоты в составе пептидогликана. По типу питания большинство видов *Clostridium* гетеротрофы, но встречаются хемолитоавтотрофы (осуществляют гомоацетатное брожение с образованием спиртов и органических кислот в качестве конечных продуктов) [49]. Для большинства видов рода *Clostridium*, способных к маслянокислому брожению, бутанол является основным продуктом. Получение таких продуктов делает род *Clostridium* ценным с биотехнологической точки зрения [50]. Представители данного рода являются также продуцентами протеолитических ферментов. *Clostridium histolyticum* является известным продуцентом коллагенолитических протеаз. Известно о продукции липолитических ферментов представителями данного рода. Например, *Clostridium tetanomorphum* продуцирует внеклеточную липазу [26, 51].

До 12,4 % на 9-е сутки ферментации приходится на бактерии семейства *Clostridiaceae*, которые не были идентифицированы до рода.

Процентное содержание бактерии рода *Paucibacter* составило до 26,7 % на 2-е сутки ферментации. Сообщалось об использовании штамма *Paucibacter aquatile* DH15 для борьбы с цветением вредных цианобактерий. Данный штамм проявляет цианобактерицидную активность против *Microcystis aeruginosa* за счет сочетания физического прикрепления и секреции цианобактерицидного соединения [52]. Вид *Paucibacter toxinivorans* способен к деградации микроцистинов и нодуларина (цианобактериальные гепатотоксины). Это делает его перспективным объектом исследования в области борьбы с вредными цианобактериями и очистки воды от их токсинов [53].

Род *Acinetobacter*, наравне с *Weissella*, составляет наибольший процент от всех присутствующих микроорганизмов при ферментации рапсового жмыха. *Acinetobacter* представляет из себя род грамотрицательных неподвижных строго аэробных коккобацилл. *Acinetobacter* spp. считаются непатогенными для здоровых людей, но известны случаи возникновения инфекционных поражений данным родом, что осложняется их

антибиотикорезистентностью. Виды *Acinetobacter* широко распространены в окружающей среде. Сообщалось о способности некоторых видов *Acinetobacter* продуцировать липолитические ферменты [54]. Известно о продукции *Acinetobacter parvus* в экзохитиназы для преобразования хитина в N-ацетил-*β*-D-глюкозамин (GlcNAc), который широко используется в качестве биоагента и функциональной пищевой добавки [55]. Глубинная ферментации *Acinetobacter nosocomialis* RR20 позволяет получить полигидроксибутират, который применяется в пищевой промышленности и медицине [56].

Остальные выявленные по родам бактерии были представлены в небольших количествах (менее 1 %) в процессе всего периода ферментации. Это бактерии рода *Actinomyces*, *Neoscardovia*, *Corynebacterium*, *Kocuria*, *Tessaracoccus*, *Sphingobacterium*, *Brevibacillus*, *Pediococcus*, *Brochothrix*, *Lactococcus*, *Staphylococcus*, *Lachnoclostridium*, *Ensifer*, *Ochrobactrum*, *Janthinobacterium*, *Pseudomonas* и *Stenotrophomonas*.

Полученные результаты отличаются от данных, представленных при исследовании микробиоты цельных семян рапса, где среди всех выявленных родов микроорганизмов 15 составили основную массу. Это такие роды, как *Pantoea*, *Pseudomonas*, *Sphingomonas*, unclassified *Enterobacteriaceae*, *Sphingobium*, *Escherichia-Shigella*, *Blastomonas*, unclassified *Microbacteriaceae*, *Streptococcus* и др. [16]. Данное различие может быть связано с обработкой семян, которой они подвергаются при маслопроизводстве (высокие температуры), а также с отличием в химических составах поверхностей цельных семян и рапсового жмыха. Кроме того, в водной среде при ферментации состав изменяется с течением времени, поскольку микроорганизмы в больших количествах продуцируют различные вещества, в том числе изменяя кислотность. Это ведет к изменению микробного сообщества в системе рапсовый жмых – вода за счет межвидовой конкуренции.

Выводы

Биотехнологическая промышленность, как и любая другая отрасль, постоянно нуждается в разработке новых подходов и использовании новых видов сырья, которое будет отвечать требованиям безопасности, эффективности и экономичности. В этом плане рапсовый жмых является перспективным вариантом для отрасли. Благодаря своему компонентному составу рапсовый жмых может использоваться в качестве субстрата для бактерий при промышленном получение таких ферментов, как липазы и протеазы. Исследование нативной микробиоты рапсового жмыха при его жидкофазной ферментации позволит выделить микроорганизмы, которые представляют интерес в качестве промышленных штаммов и способны расти на данном типе сырья.

В процессе работы описана морфология 16 основных групп микроорганизмов, которые присутствуют в отобранных образцах суспензии. Колонии с морфологией 1, 3, 8, 12 и 13 являлись преобладающими для всех суток ферментации, что позволяет предположить их рост при жидкофазной ферментации на рапсовом жмыхе в качестве изолятов. Однако следует учитывать влияние межвидовых взаимодействий при ферментации консорциума, поскольку существует вероятность, что для некоторых видов выделенных бактерий при культивировании необходимо присутствие других бактерий.

Полученные изоляты обладают широким морфологическим разнообразием по цвету, размерам, профилю и формам колоний. Выделенные цветные колонии представляют интерес в качестве потенциальных источников пигментов.

В результате метагеномного анализа суспензии рапсового жмыха было обнаружено присутствие более 28 родов бактерий. Наибольшее процентное содержание пришлось на бактерии родов *Weisella* (до 45,8 % на 2-е сутки), *Acinetobacter* (до 40,6 % на 7-е сутки), *Lactobacillus* (до 15,7 % на 5-е сутки), *Leuconostoc* (до 15,1 % на 7-е сутки), *Enterococcus* (до 14,6 % на 5-е сутки) и *Paenibacillus* (до 16,3 % на 9-е сутки). Представители всех выделенных родов распространены в природе, занимают различные экологические ниши и имеют разнообразную морфологию и условия культивирования. Они способны синтезировать широкий спектр биохимических веществ и находят разнообразное применение в различных областях промышленности. Многие из них являются продуцентами ферментов, в том числе липаз.

Дальнейшая работа направлена на идентификацию микроорганизмов для определения их видовой принадлежности. Это позволит выявить их полезные характеристики и подобрать оптимальные условия культивирования. Биомасса 127 изолятов собрана для последующего выделения ДНК и идентификации при помощи секвенирования. На следующем этапе планируется произвести количественную оценку липазной активности выбранных микроорганизмов аналитическими методами. Следует отметить, что на протяжении выбранного периода ферментации (9 суток) наблюдалось увеличение количества биомассы нативной микробиоты рапсового жмыха. Такая закономерность может быть следствием симбиотического взаимодействия микроорганизмов. В связи с этим в дальнейшей работе планируется увеличение продолжительности ферментации для более полного исследования представителей нативной микробиоты рапсового жмыха.

Критерии авторства

Е. В. Подшивалова и О. П. Свердлова: проведение исследований. Н. Ю. Шарова: руководитель исследования, концептуализация, методология и редактирование статьи. Д. Д. Белова: анализ литературных источников и подготовка статьи.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Contribution

E.V. Podshivalova and O.P. Sverdlova conducted the research. N.Yu. Sharova supervised the research, developed the research concept and methodology, and proofread the manuscript. D.D. Belova reviewed scientific publications and wrote the manuscript.

Conflict of interest

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

References/Список литературы

1. Renzyaeva TV, Renzyaev AO, Kravtchenko SN, Reznichenko IYu. Capabilities of rapeseed oilcake as food raw materials. Storage and Processing of Farm Products. 2020;(2):143–160. (In Russ.). https://doi.org/10.36107/spfp.2020.213; https://www.elibrary.ru/SJPZJK

2. Bagnani M, Ehrengruber S, Soon WL, Peydayesh M, Miserez A, Mezzenga R. Rapeseed Cake valorization into bioplastics based on protein amyloid fibrils. Advanced Materials Technologies. 2022;8(3):2200932. https://doi.org/10.1002/admt.202200932

3. Sousa D, Salgado JM, Cambra-López M, Dias A, Belo I. Biotechnological valorization of oilseed cakes: Substrate optimization by simplex centroid mixture design and scale-up to tray bioreactor. Biofuels, Bioproducts and Biorefining. 2022; 17(1):121–134. https://doi.org/10.1002/bbb.2428

4. Zhou T, Chen L, Wang W, Xu Y, Zhang W, Zhang H, *et al.* Effects of application of rapeseed cake as organic fertilizer on rice quality at high yield level. Journal of the Science of Food and Agriculture. 2022;102(5):1832–1841. https://doi.org/10.1002/jsfa.11518

5. Fu H, Li H, Yin P, Mei H, Li J, Zhou P, *et al.* Integrated application of rapeseed cake and green manure enhances soil nutrients and microbial communities in tea garden soil. Sustainability. 2021;13(5):2967. https://doi.org/10.3390/su13052967

6. Paciorek-Sadowska J, Borowicz M, Isbrandt M, Czupryński B, Apiecionek Ł. The use of waste from the production of rapeseed oil for obtaining of new polyurethane composites. Polymers. 2019;11(9):1431. https://doi.org/10.3390/polym11091431

7. Joseph C, Savoire R, Harscoat-Schiavo C, Pintori D, Monteil J, Faure C, *et al.* Redispersible dry emulsions stabilized by plant material: Rapeseed press-cake or cocoa powder. LWT. 2019;113;108311. https://doi.org/10.1016/j.lwt.2019.108311

8. Joseph C, Savoire R, Harscoat-Schiavo C, Pintori D, Monteil J, Faure C, *et al.* Pickering emulsions stabilized by various plant materials: Cocoa, rapeseed press cake and lupin hulls. LWT. 2020;130:109621. https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.109621

9. Tian Y, Zhou Y, Kriisa M, Anderson M, Laaksonen O, Kütt M-L, *et al.* Effects of fermentation and enzymatic treatment on phenolic compounds and soluble proteins in oil press cakes of canola (*Brassica napus*). Food Chemistry. 2023; 409:135339. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2022.135339

10. Sousa D, Simões L, Oliveira R, Salgado JM, Cambra-López M, Belo I, *et al.* Evaluation of biotechnological processing through solid-state fermentation of oilseed cakes on extracts bioactive potential. Biotechnology Letters. 2023;45:1293–1307. https://doi.org/10.1007/s10529-023-03417-4

11. Wagner C, Bonte A, Brühl L, Niehaus K, Bednarz H, Matthäus B. Microorganisms growing on rapeseed during storage affect the profile of volatile compounds of virgin rapeseed oil. Journal of the Science of Food and Agriculture. 2017; 98(6):2147–2155. https://doi.org/10.1002/jsfa.8699

12. Lysak VV, Zheldakova RA, Fomina OV. Workshop in microbiology. Minsk: Belarusian State University; 2015. 115 p. (In Russ.). [Лысак В. В., Желдакова Р. А., Фомина О. В. Микробиология. Практикум. Минск: БГУ, 2015. 115 с.].

13. Galperin MY. Genome diversity of spore-forming *Firmicutes.* Microbiology Spectrum. 2013;1(2). https://doi.org/10.1128/microbiolspectrum.tbs-0015-2012

14. Seong CN, Kang JW, Lee JH, Seo SY, Woo JJ, Park C, *et al.* Taxonomic hierarchy of the phylum *Firmicutes* and novel *Firmicutes* species originated from various environments in Korea. Journal of Microbiology. 2018;56:1–10. https://doi.org/10.1007/s12275-018-7318-x

15. Popescu SC, Tomaso-Peterson M, Wilkerson T, Bronzato-Badial A, Wesser U, Popescu GV. Metagenomic analyses of the soybean root mycobiome and microbiome reveal signatures of the healthy and diseased plants affected by taproot decline. Microorganisms. 2022;10(5):856. https://doi.org/10.3390/microorganisms10050856

16. Simonin M, Briand M, Chesneau G, Rochefort A, Marais C, Sarniguet A, *et al.* Seed microbiota revealed by a large-scale meta-analysis including 50 plant species. New Phytologist. 2022;234(4):1448–1463. https://doi.org/10.1111/nph.18037

17. Klūga A, Dubova L, Alsiņa I, Rostoks N. Alpha-, gamma- and beta-proteobacteria detected in legume nodules in Latvia, using full-length 16S rRNA gene sequencing. Acta Agriculturae Scandinavica, Section B – Soil ans Plant Science. 2023;73(1):127–141. https://doi.org/10.1080/09064710.2023.2232681

18. Kersters K, de Vos P, Gillis M, Swings J, Vandamme P, Stackebrandt E. Introduction to the Proteobacteria. In: Dworkin M, Falkow S, Rosenberg E, Schleifer K-H, Stackebrandt E, editors. The Prokaryotes. Vol. 5: Proteobacteria: Alpha and beta subclasses. New York: Springer; 2006. pp. 3–37. https://doi.org/10.1007/0-387-30745-1_1

19. Floc'h, J-B, Hamel C, Newton Lupwayi, Neil Harker K, Hijri M, St-Arnaud M. Bacterial communities of the canola rhizosphere: Network analysis reveals a core bacterium shaping microbial interactions. Frontiers in Microbiology. 2020; 11:1587. https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.01587

20. Wink J, Mohammadipanah F, Hamedi J. Biology and biotechnology of actinobacteria. Cham: Springer; 2017. 395 p. https://doi.org/10.1007/978-3-319-60339-1

21. Javed Z, Tripathi GD, Mishra M, Dashora K. Actinomycetes – The microbial machinery for the organic-cycling, plant growth, and sustainable soil health. Biocatalysis and Agricultural Biotechnology. 2021;31;101893. https://doi.org/10.1016/j.bcab.2020.101893

22. Berman JJ. Class Bacilli plus class Clostridia. In: Berman JJ, editor. Taxonomic guide to infectious diseases. Academic Press; 2012. pp. 65–71. https://doi.org/10.1016/B978-0-12-415895-5.00012-X

23. Muntean D, Horhat F-G, Bădițoiu L, Dumitrașcu V, Bagiu I-C, Horhat D-I, *et al.* Multidrug-resistant gram-negative Bacilli: A retrospective study of trends in a tertiary healthcare unit. Medicina. 2018;54(6):92. https://doi.org/10.3390/medicina54060092

24. Hebishy E, Yerlikaya O, Mahony J, Akpinar A, Saygili D. Microbiological aspects and challenges of whey powders – I thermoduric, thermophilic and spore-forming bacteria. International Journal of Dairy Technology. 2023;76(4):779–800. https://doi.org/10.1111/1471-0307.13006

25. Dame ZT, Rahman M, Islam T. Bacilli as sources of agrobiotechnology: recent advances and future directions. Green Chemistry Letters and Reviews. 2021;14(2):246–271. https://doi.org/10.1080/17518253.2021.1905080

26. Du Y, Zou W, Zhang Ka, Ye G, Yang J. Advances and applications of *Clostridium* co-culture systems in biotechnology. Frontiers in Microbiology. 2020;11:560223. https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.560223

27. Diallo M, Kengen SWM, López-Contreras AM. Sporulation in solventogenic and acetogenic clostridia. Applied Microbiology and Biotechnology. 2021;105:3533–3557. https://doi.org/10.1007/s00253-021-11289-9

28. Zhang Q, Zhang Z, Lu T, Yu Y, Penuelas J, Zhu Y-G, *et al.* Gammaproteobacteria, a core taxon in the guts of soil fauna, are potential responders to environmental concentrations of soil pollutants. Microbiome. 2021;9:196. https://doi.org/10.1186/s40168-021-01150-6

29. Rizzatti G, Lopetuso LR, Gibiino G, Binda C, Gasbarrini A. Proteobacteria: A common factor in human diseases. BioMed Research International. 2017;2017:9351507. https://doi.org/10.1155/2017/9351507

30. Muñoz-Gómez SA, Hess S, Burger G, Franz Lang B, Susko E, Slamovits CH, *et al.* An updated phylogeny of the *Alphaproteobacteria* reveals that the parasitic *Rickettsiales* and *Holosporales* have independent origins. eLife. 2019;8:e42535. https://doi.org/10.7554/eLife.42535

31. Ahirwar NK, Singh R, Chaurasia S, Chandra R, Prajapati S, Ramana S. Effective role of beneficial microbes in achieving the sustainable agriculture and eco-friendly environment development goals: A review. Frontiers in Environmental Microbiology. 2020;5(6):111–123. https://doi.org/10.11648/j.fem.20190506.12

32. Lee N-K, Kim W-S, Paik H-D. *Bacillus* strains as human probiotics: Characterization, safety, microbiome, and probiotic carrier. Food Science and Biotechnology. 2019;28:1297–1305. https://doi.org/10.1007/s10068-019-00691-9

33. Koilybayeva M, Shynykul Z, Ustenova G, Abzaliyeva S, Alimzhanova M, Amirkhanova A, *et al.* Molecular characterization of some *Bacillus* species from vegetables and evaluation of their antimicrobial and antibiotic potency. Molecules. 2023;28(7):3210. https://doi.org/10.3390/molecules28073210

34. Kumar R, Goomber S, Kaur J. Engineering lipases for temperature adaptation: Structure function correlation. Biochimica et Biophysica Acta (BBA) – Proteins and Proteomics. 2019;1867(11):140261. https://doi.org/10.1016/j.bbapap.2019.08.001

35. Contreras GA, Munita JM, Arias CA. Novel strategies for the management of vancomycin-resistant Enterococcal infections. Current Infectious Disease Reports. 2019;21:22. https://doi.org/10.1007/s11908-019-0680-y

36. Hassan SE-D, Abdel-Rahman MA, Roushdy MM, Azab MS, Gaber MA. Effective biorefinery approach for lactic acid production based on co-fermentation of mixed organic wastes by *Enterococcus durans* BP130. Biocatalysis and Agricultural Biotechnology. 2019;20:101203. https://doi.org/10.1016/j.bcab.2019.101203

37. Wang Y, Chan K-L, Abdel-Rahman MA, Sonomoto K, Leu S-Y. Dynamic simulation of continuous mixed sugar fermentation with increasing cell retention time for lactic acid production using *Enterococcus mundtii* QU 25. Biotechnology for Biofuels and Bioproducts. 2020;13:112. https://doi.org/10.1186/s13068-020-01752-6

38. Divyashree S, Anjali PG, Somashekaraiah R, Sreenivasa MY. Probiotic properties of *Lactobacillus casei* – MYSRD 108 and *Lactobacillus plantarum*-MYSRD 71 with potential antimicrobial activity against *Salmonella paratyphi*. Biotechnology Reports. 2021;32:e00672. https://doi.org/10.1016/j.btre.2021.e00672

39. Riaz Rajoka MS, Wu Y, Mehwish HM, Bansal M, Zhao L. *Lactobacillus* exopolysaccharides: New perspectives on engineering strategies, physiochemical functions, and immunomodulatory effects on host health. Trends in Food Science and Technology. 2020;103:36–48. https://doi.org/10.1016/j.tifs.2020.06.003

40. Guan C, Tao Z, Wang L, Zhao R, Chen X, Huang X, *et al.* Isolation of novel *Lactobacillus* with lipolytic activity from the vinasse and their preliminary potential using as probiotics. AMB Express. 2020;10:91. https://doi.org/10.1186/s13568-020-01026-2

41. Zikmanis P, Brants K, Kolesovs S, Semjonovs P. Extracellular polysaccharides produced by bacteria of the *Leuconostoc* genus. World Journal of Microbiology and Biotechnology. 2020;36:161. https://doi.org/10.1007/s11274-020-02937-9

42. Leeuwendaal NK, Stanton C, O'Toole PW, Beresford TP. Fermented foods, health and the gut microbiome. Nutrients. 2022;14(7):1527. https://doi.org/10.3390/nu14071527

43. Sukohidayat NHE, Zarei M, Baharin BS, Manap MY. Purification and characterization of lipase produced by *Leuconostoc mesenteroides* subsp. *mesenteroides* ATCC 8293 using an aqueous two-phase system (ATPS) composed of Triton X-100 and maltitol. Molecules. 2018;23(7):1800. https://doi.org/10.3390/molecules23071800

44. Teixeira CG, da Silva RR, Fusieger A, Martins E, de Freitas R, de Carvalho AF. The Weissella genus in the food industry: A review. Research, Society and Development. 2021;10(5):e8310514557. https://doi.org/10.33448/rsd-v10i5.14557

45. Kavitake D, Devi PB, Shetty PH. Overview of exopolysaccharides produced by Weissella genus – A review. International Journal of Biological Macromolecules. 2020;164:2964–2973. https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.08.185

46. Xue H, Tu Y, Ma T, Jiang N, Piao C, Li Y. Taxonomic study of three novel *Paenibacillus* species with cold-adapted plant growth-promoting capacities isolated from root of *Larix gmelinii*. Microorganisms. 2023;11(1):130. https://doi.org/10.3390/microorganisms11010130

47. do Couto MTT, da Silva AV, Sobral RVS, Rodrigues CH, da Cunha MNC, Leite ACL, *et al.* Production, extraction and characterization of a serine protease with fibrinolytic, fibrinogenolytic and thrombolytic activity obtained by *Paenibacillus graminis*. Process Biochemistry. 2022;118:335–345. https://doi.org/10.1016/j.procbio.2022.05.005

48. Nguyen DL, Hwang J, Kim EJ, Lee JH, Han SJ. Production and characterization of a recombinant cold-active acetyl Xylan esterase from psychrophilic *Paenibacillus* sp. R4 strain. Applied Biochemistry and Microbiology. 2022;58:428–434. https://doi.org/10.1134/S0003683822040123

49. Li C-J, Zhang Z, Zhan P-C, Lv A-P, Li P-P, Liu L, *et al.* Comparative genomic analysis and proposal of *Clostridium yunnanense* sp. nov., *Clostridium rhizosphaerae* sp. nov., and *Clostridium paridis* sp. nov., three novel *Clostridium sensu stricto* endophytes with diverse capabilities of acetic acid and ethanol production. Anaerobe. 2023;79:102686. https://doi.org/10.1016/j.anaerobe.2022.102686

50. de Brito Bezerra PKS, de Azevedo JCS, dos Santos ES. Biobutanol production by batch and fed-batch fermentations from the green coconut husk hydrolysate using *C. beijerinckii* ATCC 10132. Biomass Conversion and Biorefinery. 2023. https://doi.org/10.1007/s13399-023-04537-7

51. Mills SA, Gelbard MK. Sixty years in the making: Collagenase *Clostridium histolyticum*, from benchtop to FDA approval and beyond. World Journal of Urology. 2020;38:269–277. https://doi.org/10.1007/s00345-019-02818-3

52. Le VV, Ko S-R, Kang M, Park C-Y, Lee S-A, Oh H-M, *et al.* The cyanobactericidal bacterium *Paucibacter aquatile* DH15 caused the decline of *Microcystis* and aquatic microbial community succession: A mesocosm study. Environmental Pollution. 2022;311:119849. https://doi.org/10.1016/j.envpol.2022.119849

53. Santos AA, Soldatou S, de Magalhães VF, Azevedo SMFO, Camacho-Muñoz D, Lawton LA. Degradation of multiple peptides by microcystin-degrader *Paucibacter toxinivorans* (2C20). Toxins. 2021;13(4):265. https://doi.org/10.3390/toxins13040265

54. Bunmadee S, Teeka J, Lomthong T, Kaewpa D, Areesirisuk P, Areesirisuk A. Isolation and identification of a newly isolated lipase-producing bacteria (*Acinetobacter baumannii* RMUTT3S8-2) from oily wastewater treatment pond in a poultry processing factory and its optimum lipase production. Bioresource Technology Reports. 2022;20:101267. https://doi.org/10.1016/j.biteb.2022.101267

55. Kim TI, Ki KS, Lim DH, Vijayakumar M, Park SM, Choi SH, *et al.* Novel *Acinetobacter parvus* HANDI 309 microbial biomass for the production of *N*-acetyl-β-d-glucosamine (GlcNAc) using swollen chitin substrate in submerged fermentation. Biotechnology for Biofuels and Bioproducts. 2017;10:59. https://doi.org/10.1186/s13068-017-0740-1

56. Reddy AR, Peele KA, Krupanidhi S, Prabhakar KV, Venkateswarulu TC. Production of polyhydroxybutyrate from *Acinetobacter nosocomialis* RR20 strain using modified mineral salt medium: a statistical approach. International Journal of Environmental Science and Technology. 2019;16:6447–6452. https://doi.org/10.1007/s13762-018-2102-3

ISSN 2074-9414 (Print)
ISSN 2313-1748 (Online)

https://doi.org/10.21603/2074-9414-2024-2-2505
https://elibrary.ru/ZHKHUX

Оригинальная статья
https://fptt.ru

Развитие микобиоты ягод крыжовника при хранении

Н. В. Мотовилова*, О. В. Голуб, Г. П. Чекрыга

Сибирский федеральный научный центр агробиотехнологий Российской академии наук, Краснообск, Россия

Поступила в редакцию: 21.02.2023
Принята после рецензирования: 15.08.2023
Принята к публикации: 05.09.2023

**Н. В. Мотовилова: motovilovanv@sfsca.ru, https://orcid.org/0000-0002-2249-7666*
О. В. Голуб: https://orcid.org/0000-0003-2561-9953
Г. П. Чекрыга: https://orcid.org/0000-0002-3756-1798

© Н. В. Мотовилова, О. В. Голуб, Г. П. Чекрыга, 2024

Аннотация.
Ягоды в питании человека рассматриваются как источник биологически активных веществ. Ягоды крыжовника обладают оригинальными органолептическими характеристиками и высокой пищевой ценностью. Однако информации о контаминации микромицетами ягод крыжовника недостаточно. Цель работы – определение состава микобиоты ягод крыжовника вида *Ribes uva-crispa* L. и его изменение в зависимости от сорта и условий хранения.
Объект исследования – микобиота ягод крыжовника сортов Сенатор и Розовый 2. Ягоды собрали на биополигоне Сибирского федерального научного центра агробиотехнологий Российской академии наук, хранили в течение 18 суток при температуре 18 ± 2 и 4 ± 2 °С и относительной влажности воздуха 90–95 %. Методы исследования – общепринятые и стандартные.
В микобиоте исследуемых сортов ягод крыжовника выявили микромицеты, отнесенные по морфологическому строению к 9 родам, частота встречаемости которых менялась от 20 до 100 % (*Aspergillus*, *Mucor*, *Penicillium*, *Rhizopus*, *Alternaria*, *Aureobasidium*, *Cladosporium*, *Cryptococcus* и анаэробные дрожжи). Микромицеты рода *Fusarium* выявили только в микобиоте ягод сорта Сенатор. Особенностью микобиоты ягод сорта Сенатор являлась 100 %-ая встречаемость грибов родов *Penicillium*, *Alternaria*, *Aspergillus* и *Cladosporium*, в микобиоте ягод сорта Розовый 2 отметили 80 %-ую встречаемость *Penicillium* и *Cladosporium*. Численность микромицетов ягод сорта Сенатор была в 2 раза меньше, чем ягод сорта Розовый 2, – 558 и 945 соответственно. Увеличение численности микромицетов ягод сорта Сенатор происходило за счет грибов рода *Cladosporium*, Розовый 2 – *Penicillium*. В микобиоте обоих сортов ягод не выявили возбудителей мучнистой росы – аскомицетов. В процессе хранения на развитие дрожжей и дрожжеподобных грибов влиял сорт ягод, на развитие мицелиальных грибов – сорт и температура хранения.
Полученные данные расширяют объем научных знаний о родовом составе микобиоты ягод крыжовника, что определяет выбор мероприятий, обеспечивающих предотвращение их порчи.

Ключевые слова. *Ribes uva-crispa* L., ягода, сорт, микобиота, плесневые грибы, дрожжи, микробиота, хранение

Для цитирования: Мотовилова Н. В., Голуб О. В., Чекрыга Г. П. Развитие микобиоты ягод крыжовника при хранении // Техника и технология пищевых производств. 2024. Т. 54. № 2. С. 261–274. https://doi.org/10.21603/2074-9414-2024-2-2505

https://doi.org/10.21603/2074-9414-2024-2-2505
https://elibrary.ru/ZHKHUX

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

Gooseberry Microbiota during Storage

Natalya V. Motovilova*, Olga V. Golub, Galina P. Chekryga

Siberian Federal Scientific Center of Agro-BioTechnologies of the Russian Academy of Sciences, Krasnoobsk, Russia

Received: 21.02.2023
Revised: 15.08.2023
Accepted: 05.09.2023

**Natalya V. Motovilova: motovilovanv@sfsca.ru, https://orcid.org/0000-0002-2249-7666*
Olga V. Golub: https://orcid.org/0000-0003-2561-9953
Galina P. Chekryga: https://orcid.org/0000-0002-3756-1798

© N.V. Motovilova, O.V. Golub, G.P. Chekryga, 2024

Abstract.
Berries are a source of biologically active substances in human diet. Gooseberries have attractive sensory properties and high nutritional value. However, modern science knows little about micromycetic contamination of gooseberry. The research objective was to define the mycobiota composition of *Ribes uva-crispa* L. varieties during storage.
The study featured the mycobiota of gooseberry varieties Senator and Rozoviy 2. The berries were harvested on the test field of the Siberian Federal Scientific Center of Agro-BioTechnologies of the Russian Academy of Sciences. They were stored for 18 days at 18 ± 2 and 4 ± 2°C and a relative humidity of 90–95%.
The authors used standard research methods to identify the mycobiota and attribute them to nine genera by morphological structure: *Aspergillus*, *Mucor*, *Penicillium*, *Rhizopus*, *Alternaria*, *Aureobasidium*, *Cladosporium*, *Cryptococcus*, and anaerobic yeast. The frequency of occurrence varied from 20 to 100%. Micromycetes of the genus *Fusarium* were present only in the Senator sample, which also demonstrated a 100% occurrence of *Penicillium*, *Alternaria*, *Aspergillus*, and *Cladosporium*. In the sample of Rozoviy 2, *Penicillium* and *Cladosporium* occurred in 80%. The Senator sample was twice as low in micromycetes as the Rozoviy 2 berries: 558 vs. 945, respectively. The Senator berries grew in micromycetes due to the *Cladosporium* fungi while Rozoviy 2 owed its micromycetic increase to *Penicillium*. Both varieties showed no signs of ascomycetes known as a powdery mildew agent. During storage, the growth of yeast and yeast-like fungi depended on the variety of berries while the growth of mycelial fungi depended on the variety and storage temperature.
The data obtained expand the scope of scientific knowledge about the generic composition of gooseberry mycobiota, which may help to select correct anti-spoilage measures.

Keywords. *Ribes uva-crispa* L., berry, variety, mycobiota, mold fungi, yeast, microbiota, storage

For citation: Motovilova NV, Golub OV, Chekryga GP. Gooseberry Microbiota during Storage. Food Processing: Techniques and Technology. 2024;54(2):261–274. (In Russ.). https://doi.org/10.21603/2074-9414-2024-2-2505

Введение

Фрукты, в том числе ягоды, необходимы в питании человека, поскольку являются источником жизненно необходимых нутриентов, в том числе пищевых волокон, витаминов, минеральных веществ и пр. [1–3]. Согласно Приказу Министерства здравоохранения РФ от 19.08.2016 г. № 614 «Об утверждении Рекомендаций по рациональным нормам потребления пищевых продуктов, отвечающих современным требованиям здорового питания» минимальное потребление фруктов в год – 100 кг, из них 7 кг приходится на ягоды. Мировое потребление ягод растет, в том числе из-за пропаганды здорового образа жизни. Поскольку их употребляют в сыром виде, то они являются поставщиком патогенных микроорганизмов, которые могут находиться как на их поверхности (эпифиты), так и внутри тканей (эндофиты) [4–6].

Для микроорганизмов характерны свойства комменсализма, мутуализма и инфекций, сила которых меняется при воздействии биотических, абиотических и антропогенных факторов [7].

Знаний о микробных сообществах свежих ягод недостаточно. Основные направления исследований посвящены болезням растений (коммерчески востребованных овощей или плодов), вызываемых бактериями, грибами и вирусами, а также разработке способов их выявления и предотвращения. R. J. Mendes с соавторами выявили биологическую активность смесей пептидов (BP100:RW-BP100, BP100:CA-M и RW-BP100:CA-M) в отношении штаммов бактерии *Erwinia amylovora* (LMG 2024, Ea 630 и Ea 680), вызывающей бактериальный ожог деревьев [8]. K. Çağlayan с соавторами секвенировали полный геном нового РНК-вируса, предварительно названного вирусом вишни

Турции (CVTR), принадлежащего к роду *Robigovirus* из симптоматических листьев черешневого дерева (*Prunus avium* cv. 0900 Ziraat). Также авторы выдвинули предположение о том, что данный вирус заражает деревья в вишневых садах страны [9]. Ш. Разо с соавторами разработали иммунохроматографическую тест-систему на основе каталитических свойств наночастиц Au-Pt, которая обеспечивает высокочувствительную детекцию возбудителя бактериального ожога *E. amylovora* [10].

Грибной компонент (микобиота) свежих ягод является неотъемлемой, но менее исследованной, частью микробиоты по сравнению с бактериальным компонентом [11]. М. М. Гомжина с соавторами провели оценку биоразнообразия грибов, ассоциированных с дикорастущей черникой, которая произрастает на территории Ленинградской области, Республики Карелия и Финляндии. Авторы идентифицировали 12 видов грибов (*Boeremia exigua*, *Colletotrichum salicis*, *Diaporthe eres*, *Diaporthe pulla*, *Fusarium avenaceum*, *Fusarium incarnatum*, *Fusarium sporotrichioides*, *Heterophoma sylvatica*, *Kalmusia longispora*, *Microsphaeropsis olivacea*, *Neocucurbitaria cava* и *Sporocadus rosigena*) и выявили микромицеты родов *Alternaria*, *Chaetomium*, *Cladosporium*, *Coniothyrium*, *Curvularia*, *Epicoccum*, *Penicillium*, *Pestalotiopsis*, *Sordaria* и *Trichoderma* [12]. Отмечено, что около 25 % всех овощей и ягод ежегодно теряется из-за грибковых инфекций в процессе сбора, послеуборочной обработки и последующей переработки [13, 14]. Микобиота ягод может представлять угрозу для здоровья человека. Например, микотоксины – вторичные метаболиты мицелиальных грибов – способны вызывать тяжелые системные заболевания, аллергические реакции или инфекции, вызванные условно-патогенными грибковыми возбудителями и пр. [15, 16]. Пораженные грибковыми инфекциями ягоды изменяют свои качественные характеристики: появляется неприятный запах, приобретается не характерная для вида или сорта ягод твердость, снижается пищевая ценность, в том числе за счет биологически активных веществ и пр. [13, 17]. Поэтому в научном сообществе проводятся постоянные исследования микобиоты как произрастающих фруктов, так и в процессе их послеуборочной обработки, переработки и реализации. Ж. Айтымбет с соавторами определили, что поражение плодов яблони Сиверса, произрастающей на территории плодовых лесов Казахстана, вызывает группа грибов родов *Alternaria*, *Ascochyta*, *Aspergillus*, *Aureobasidium*, *Botrytis*, *Cladosporium*, *Diplocarpon*, *Fusarium*, *Monilinia*, *Mucor*, *Penicillium*, *Rhizopus*, *Schizothyrium*, *Syncephalastrum*, *Trichothecium* и *Venturia* [18]. М. В. Выборнова с соавторами в 10 сортах смородины, произрастающей в Центрально-черноземном районе России, выявили 7 родов грибов (*Alternaria*, *Fusarium*, *Botrytis*, *Cladosporium*, *Penicillium*, *Aspergillus* и *Rhizopus*), которые вызывают черную, фузариозную и серую гнили, черную, зелено-голубую, зелено-желтую и серую головчатую плесени соответственно, грибы рода *Puccinia* – ржавчину, грибоподобные микроорганизмы рода *Phytophthora* – фитофторозную гниль [19]. C. Gómez-Albarrán с соавторами в ягодах винограда, выращенного и собранного в Испании, выявили наличие микотоксигенных грибов, в том числе *Aspergillus flavus*, виды совокупности *Aspergillus niger* или *Aspergillus* section *Circumdati*, а также установили, что *Hanseniaspora uvarum* U1 можно рассматривать как агент биоконтроля роста грибов различных афлатоксигенных и охратоксигенных видов [20]. Т. В. Жидехина с соавторами в 6 сортах малины российской селекции и 3 иностранной, помещенной на хранение, выявили 3 рода грибов (*Alternaria*, *Fusarium* и *Botrytis*), вызывающих черную, сухую и серую гнили соответственно, 5 родов (*Cladosporium*, *Penicillium*, *Aspergillus*, *Rhizopus* и *Mucor*) – черную, зелено-голубую, зеленожелтую, серую головчатую и головчатую плесени соответственно, грибоподобные микроорганизмы рода *Phytophthora* – кожистую гниль, грибы рода *Phragmidium* – загнивание костянок [21]. P. Rodrigues с соавторами выявили, что свежие плоды каштана сорта Martaínha, выращенные в Португалии, наименее восприимчивы к росту грибов, чем сорта Judia и Longal; микобиота плодов представлена грибами родов *Mucor* и *Penicillium* (возбудители зеленой гнили), *Ciboria* (черной гнили), *Botrytis* (серой гнили) и *Gnomoniopsis* (бурой гнили); стерилизация плодов в гидротермальной ванне приводит к уничтожению грибов рода *Gnomoniopsis* и *Botrytis*, уменьшению – *Mucor*, *Penicillium* и *Alternaria* [22]. M. A. Hussein с соавторами выявили, что в микобиоте ягод клубники, реализуемых на рынках города Кена (Египет), присутствуют 15 родов грибов, доминируют *A. flavus*, *A. niger* и *Penicillium citrinum*, что противоречит результатам других исследований, в которых основными являлись грибы родов *Botrytis* и *Cladosporium* [23]. M. Quaglia с соавторами выявили в микобиоте сушеных фиников, реализуемых на рынке Перуджи (Умбрия, Центральная Италия), присутствие грибов родов *Aspergillus*, *Penicillium* и *Cladosporium* 26 изолятов; количество грибов меньше в микобиоте целых плодов, упакованных в герметичную упаковку [24].

Крыжовник, представляющий собой листопадный кустарник, принадлежит к семейству *Grossulariaceae* и роду *Ribes*. Крыжовник европейского вида (*Ribes uva-crispa* L.) является наиболее распространенным видом среди встречающихся во всем мире. Ягоды крыжовника обладают оригинальными органолептическими характеристиками и высокой пищевой ценностью. Пищевая ценность вызывала и вызывает интерес у людей, которые стремятся вести здоровый образ жизни, поскольку биологически активные вещества ягод крыжовника обладают потенциалом, способствующим укреплению здоровья [25–27]. На основании вышесказанного специалистами осуществляется разработка пищевой продукции, способной удовлетворить возрастающие потребности потребителей [28–30]. Несмотря на объем информации о возможностях пищевого использования

ягод крыжовника, их коммерческая ценность ограничена, в том числе из-за уязвимости для многочисленных патогенов, включая грибы, бактерии и вирусы. Сегодня практически отсутствуют исследования, посвященные изучению микро- и микобиоты (паразитических аскомицетов *Sphaerotheca mors-uvae* Berk. Et Curt. и других фитопатогенов) [31–33].

Цель исследования – определение состава микобиоты ягод крыжовника вида *R. uva-crispa* и его изменение в зависимости от сорта и условий хранения.

Объекты и методы исследования

Объекты исследования – микобиота ягод крыжовника вида *Ribes uva-crispa* L. культурных сортов Сенатор и Розовый 2. Ягоды собрали на биополигоне Сибирского федерального научного центра агробиотехнологий Российской академии наук. Сбор ягод в контейнеры без крышки из полиэтилентерефталата массой 500 ± 20 г осуществляли в сухую погоду вручную. Объем партии исследуемых сортов ягод составил по 20 упаковочных единиц для каждого варианта хранения, объем выборки – 3 упаковочные единицы. Ягоды по своим характеристикам качества соответствовали требованиям второго товарного сорта (ГОСТ 33485-2015): ягоды свежие, развившиеся, здоровые, чистые, целые, без излишней внешней влажности; ягоды разнородные по размеру (масса одной ягоды, г: Сенатор – от 2,5 до 4,4, Розовый 2 – от 5,0 до 10,0), однородные по окраске (Сенатор – темно-красные, Розовый 2 – светло-красные), без дефектов формы (Сенатор – округлая форма, Розовый 2 – округло-овальная); утечки сока, с незначительной помятостью (Сенатор – тонкая кожица, Розовый 2 – плотная); запах и вкус – свойственные ягодам крыжовника, нежные, сладко-кислые; стадия зрелости – техническая; механические повреждения и повреждения, вызванные сельскохозяйственными вредителями и болезнями, в т. ч. мучнистой росой, – отсутствовали; ягоды запаренные, забродившие, заплесневелые, загнившие, со следами химических средств защиты – отсутствовали; минеральные примеси и примеси растительного происхождения – отсутствовали; массовая доля сухих веществ, %: Сенатор – 20,3, Розовый 2 – 20,8.

Хранение ягод крыжовника осуществляли при параметрах физических воздействий, воспроизводимых при промышленном хранении в складских помещениях: в холодильной камере Polair, сплит-система Belluna U103 (Россия) при относительной влажности воздуха 90–95 % и температуре 18 ± 2 °С; в холодильнике Свияга 445С (Россия) при относительной влажности воздуха 90–95 % и температуре 4 ± 2 °С. Срок хранения ягод (18 суток) выбрали на основании изменений внешнего вида.

Для выявления степени контаминации микроорганизмами ягод использовали метод смыва: 10 г ягод помещали во флакон с 90 см^3 физиологического стерильного раствора и вручную встряхивали 15–20 мин, получали разведение 10^{-1}. Затем стерильной пипеткой отбирали 1 см^3 исходной смывной жидкости и приливали в пробирки к 9 см^3 физиологического раствора, получали разведения 10^{-2}–10^{-3}.

В ягодах исследовали следующие микроорганизмы:
– мезофильные аэробные и факультативно-анаэробные микроорганизмы по ГОСТ 10444.15-94. Для определения количественного обсеменения ягод мезофильно аэробными и факультативно-анаэробными микроорганизмами проводили глубинные посевы разведений в чашки Петри на мясо-пептонный агар;
– титр присутствия бактерий группы кишечных палочек определяли при посеве в жидкую селективную среду Кесслера с лактозой с учетом газообразования с дальнейшим пересевом на агаризованную среду Эндо для подтверждения принадлежности выделенных колоний к колиформным бактериям по ГОСТ 31747-2012;
– наличие бактерий рода сальмонелл по МУ 4.2.2723-10 путем посева разведений в стерильные питательные среды (забуференная пептонная вода, магниевая среда, Висмут-сульфит агар, среда Эндо, среда Клиглер);
– наличие плесневых грибов и дрожжей по ГОСТ 10444.12-2013. Для определения количественного присутствия дрожжей и плесневых грибов проводили посев в селективную агаризованную среду Сабуро с левомицетином.

Подсчет количества колоний микромицетов проводили с нижней стороны чашки Петри. Количественный учет колоний проводили путем подсчета выросших колоний: дрожжей – на 3 сутки, гифальных грибов – на 5–7 сутки с последующим перерасчетом получившихся средних чисел в 1 г ягод.

Изучение микроморфологии выделенных изолятов проводили с газона с использованием фазово-контрастной микроскопии через окуляр микроскопа (×400); фотографии сделали с использованием цифрового фотоаппарата. Родовую принадлежность выросших колоний дрожжей и плесневых грибов устанавливали по различию микроморфологического строения микромицетов, характерного для каждого рода, с использованием определителей [34–37]. Под микроскопом просматривали схожие по макроморфологическому строению выросшие колонии и подсчитывали их количество. Структуру микобиоты характеризовали по частоте встречаемости идентифицированных родов и частоте их доминирования [38–40]. Обилие представителей рода определяли по процентному содержанию изолятов одного рода по отношению к общему числу изолятов. Частоту встречаемости определяли в процентах по доле образцов, в которых обнаружены грибы данного рода, от общего числа проанализированных образцов. Частоту доминирования оценивали в процентах по доле образцов, в которых грибы данного рода превышали 30,0 % от общей численности микромицетов проанализированных образцов. Для выявления типичных родов микобиоты использовали показатель встречаемости рода: типично доминирующие – частота встречаемости свыше 70,0 %, типичные – встречаемость превышает 40,0 %, случайные – ниже 20,0 %.

Для получения достоверных результатов при подсчете количества микроорганизмов использовали стандартные методы по ГОСТ Р ИСО 7218-2008.

Для определения зависимости количества мезофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов микобиоты от продолжительности и температуры хранения использовали корреляционный анализ. Для исследования степени влияния факторов («А» – сорт ягод крыжовника, «В» – температура хранения, «С» – срок хранения) на изменение исследуемого результативного признака провели дисперсионный анализ. Обработку экспериментальных данных провели с использованием программы SNEDECOR [41].

При выполнении исследований использовали следующее оборудование: баня водяная Biosan WB-4MS (Латвия), весы лабораторные Ohaus PA2102C (Китай), весы лабораторные Ohaus PA214 (Китай), микроскоп Микромед 2 (Россия), настольный измеритель pH Ohaus Starter 2100 (Китай), плита программируемая ПЛП-03 НПП «Томьаналит» (Россия), стерилизатор паровой ВК-0701 (Россия), термостат MIR-262 Sanyo (Япония), фотоаппарат цифровой Canon PC1227/DC4/3V (Япония), шкаф сушильный ШС-80 (Россия).

Результаты и их обсуждение

Микробная загрязненность свежесобранных ягод связана со средой их произрастания, определяющейся степенью естественной контаминации в полевых условиях. Результаты исследований представлены в таблице 1.

Исследования количественного присутствия микроорганизмов в микробиоте свежесобранной ягоды обоих сортов показали, что обсемененность мезофильно аэробными и факультативно-анаэробными микроорганизмами находилась практически на одном уровне (10^4), плесневых грибов и дрожжей в пределах второго разведения. Бактерии группы кишечных палочек и патогенные микроорганизмы, в том числе рода *Salmonella*, в свежесобранных ягодах отсутствовали.

По сравнению с микробиотой свежесобранной продукции в микробиоте ягод после 3-х суток хранения при температуре 18 ± 2 °С отметили увеличение количества мезофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов: на порядок, независимо от сорта, плесневых грибов и дрожжей – в 5,0 и 3,5 раза для сортов Сенатор и Розовый 2 соответственно. Выявили бактерии группы кишечных палочек методом смыва (10^{-1}).

Количество мезофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов после 18 суток хранения при температуре 18 ± 2 °С увеличилось в микробиоте ягод сорта Сенатор в 2,92 раза, по сравнению с количеством после 3-х суток хранения, в микробиоте ягод Розовый 2 – в 9,78 раз. Количество плесневых грибов и дрожжей, а также титр бактерий группы кишечной палочки ягод сорта Сенатор не изменялись. В микробиоте ягод Розовый 2 отметили значительное увеличение титра бактерий группы кишечной палочки (до 10^2) и численность плесневых грибов и дрожжей (до 10^3).

Таблица 1. Микробиота ягод крыжовника

Table 1. Microbiota in gooseberries

Вариант хранения	Среднее количество колоний, КОЕ/г		Бактерии группы кишечной палочки		Патогенные микроорганизмы, в т. ч. сальмонеллы
	Мезофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов	Плесневых грибов и дрожжей	10^1	10^2	
Сорт Сенатор					
0	1,91 ± 0,58×10⁴	1,36 ± 0,49×10²	отсутствуют	отсутствуют	не обнаружено
I/1	2,41 ± 0,65×10⁵	7,00 ± 1,11×10²	присутствуют	отсутствуют	не обнаружено
I/2	7,04 ± 1,11×10⁵	6,86 ± 1,09×10²	присутствуют	отсутствуют	не обнаружено
II/1	1,77 ± 0,56×10⁴	7,27 ± 1,13×10²	отсутствуют	отсутствуют	не обнаружено
II/2	9,73 ± 1,30×10⁴	2,86 ± 0,71×10²	отсутствуют	отсутствуют	не обнаружено
Сорт Розовый 2					
0	2,36 ± 0,17×10⁴	2,04 ± 0,59×10²	отсутствуют	отсутствуют	не обнаружено
I/1	1,36 ± 0,48×10⁵	7,18 ± 1,12×10²	присутствуют	отсутствуют	не обнаружено
I/2	1,33 ± 0,15×10⁶	2,10 ± 1,91×10³	присутствуют	присутствуют	не обнаружено
II/1	7,50 ± 1,14×10⁴	6,23 ± 1,04×10²	отсутствуют	отсутствуют	не обнаружено
II/2	2,12 ± 1,92×10⁵	6,95 ± 1,10×10²	присутствуют	отсутствуют	не обнаружено

Примечание: 0 – свежесобранные, температура 25 ± 2 °С, относительная влажность воздуха 67–72 %; I/1 – 3 сутки хранения, температура 18 ± 2 °С, относительная влажность воздуха 90–95 %; I/2 – 18 сутки хранения, температура 18 ± 2 °С, относительная влажность воздуха 90–95 %; II/1 – 3 сутки хранения, температура 4 ± 2 °С, относительная влажность воздуха 90–95 %; II/2 – 18 сутки хранения, температура 4 ± 2 °С, относительная влажность воздуха 90–95 %.

Note: 0 – freshly harvested, 25 ± 2°C, 67–72% relative humidity; I/1 – 3 days of storage at 18 ± 2°C and 90–95% relative humidity; I/2 – 18 days of storage at 18 ± 2°C and 90–95% relative humidity; II/1 – 3 days of storage at 4 ± 2°C and 90–95% relative humidity; II/2 – 18 days of storage at 4 ± 2°C and 90–95% relative humidity.

В микробиоте ягод сорта Сенатор после 3-х суток хранения при температуре 4 ± 2 °С отметили незначительное снижение количественного присутствия мезофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов (в среднем в 0,08 раз) с одновременным увеличением численности плесневых грибов и дрожжей (более чем в 5 раз). В микробиоте ягод сорта Розовый 2 количество мезофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов, плесневых грибов и дрожжей увеличилось более чем в 3 раза, но оставалось в пределах четвертого и второго разведений соответственно. Бактерии группы кишечной палочки в микробиоте ягод, независимо от сорта, после 3-х суток хранения отсутствовали.

Количественное присутствие мезофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов увеличилось в микробиоте ягод для сорта Сенатор после 18 суток хранения при температуре 4 ± 2 °С, по сравнению с количеством после 3-х суток, практически в 5,5, в микробиоте ягод сорта Розовый 2 в 2,8 раза. Численность плесневых грибов и дрожжей в микробиоте ягод сорта Сенатор уменьшилась более чем в 2,5 раза, в микробиоте сорта Розовый 2 увеличилась в 1,1 раза. Бактерии группы кишечной палочки отсутствовали в микробиоте ягод сорта Сенатор и были выявлены в микробиоте сорта Розовый 2 (101).

Патогенные микроорганизмы рода *Salmonella* отсутствовали в микробиоте ягод сортов Сенатор и Розовый 2, независимо от срока и температуры хранения.

При анализе значимости факторов (табл. 2), влияющих на количество колоний мезофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов, плесневых грибов и дрожжей в микробиоте ягод крыжовника, установлено, что существенно влиял срок хранения (фактор «С»), меньше – сорт (фактор «А») и температура хранения (фактор «В»). Взаимодействие исследуемых факторов имело аддитивный характер в отношении исследуемых микроорганизмов микробиоты ягод крыжовника.

Корреляционный анализ показал тесную связь увеличения количества мезофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов с повышением продолжительности хранения в микробиоте сортов Сенатор (r = 0,62; P = 0,95 %) и Розовый 2 (r = 0,69; P = 0,95 %). Отметили среднюю связь между численностью количества мезофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов с изменением температуры хранения в микробиоте сортов Сенатор (r = 0,41; P = 0,95 %) и Розовый 2 (r = 0,29; P = 0,95 %).

Отметили тесную связь увеличения количества плесневых грибов и дрожжей с повышением продолжительности хранения в микробиоте сорта Розовый 2 (r = 0,70; P = 0,95 %), среднюю – с температурой хранения (r = 0,33; P = 0,95 %). Отсутствует взаимосвязь влияния продолжительности хранения с количеством плесневых грибов и дрожжей в микробиоте сорта Сенатор (r = 0,00; P = 0,95 %) и слабое влияние температуры (r = 0,08; P = 0,95 %).

Изменения микобиоты обусловлены не только особенностями помологического сорта, но и способностью микромицетов адаптироваться к средообразующим условиям. Провели исследования микобиоты ягод в процессе хранения (табл. 3–5, рис. 1–3).

В микобиоте ягод сорта Сенатор всех исследуемых образцов выделено 558 изолята грибов, отнесенных к 10 родам (табл. 5).

В микобиоте свежесобранного образца ягод сорта Сенатор выявлено 42,85 % мицелиальных, 42,85 %

Таблица 2. Значимость факторов, влияющих на микробиоту ягод крыжовника, % (p = 0,05)

Table 2. Factors that affect gooseberry microbiota, % (p = 0.05)

Фактор		Среднее количество колоний, КОЕ, г	
		Мезофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов	Плесневых грибов и дрожжей
A	Влияние	0,63	7,45
	$НСР_{0,5}$	4,37	6,78
B	Влияние	19,06	7,45
	$НСР_{0,5}$	4,37	6,78
C	Влияние	31,25	28,11
	$НСР_{0,5}$	5,35	8,30
AB	Влияние	0	2,10
	$НСР_{0,5}$	6,18	9,58
AC	Влияние	3,27	20,31
	$НСР_{0,5}$	7,56	11,74
BC	Влияние	34,3	19,19
	$НСР_{0,5}$	7,56	11,74

Примечание: фактор «А» – сорт ягод крыжовника; фактор «В» – температура хранения; фактор «С» – срок хранения.

Note: factor A – variety; factor B – storage temperature; factor C – storage time.

Таблица 3. Зарастание посевов на агаре Сабуро с левомицетином (на 3 сутки, температура 18 ± 2 °С)

Table 3. Cultures on Sabouraud agar with chloramphenicol: day 3, 18 ± 2°C

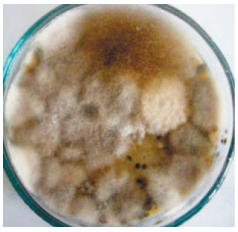
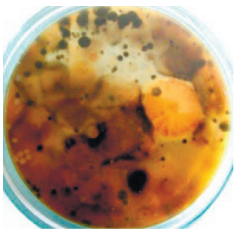
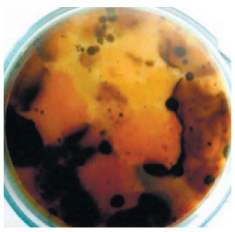
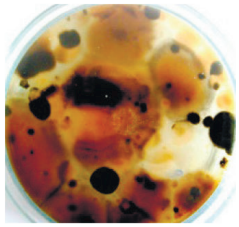
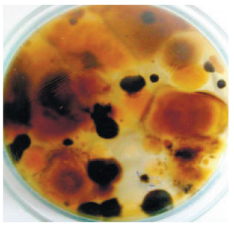
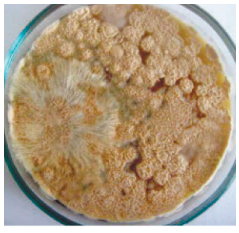
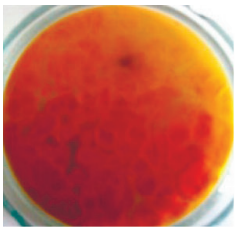
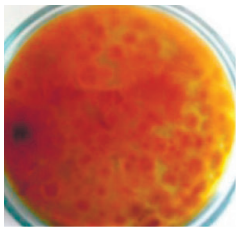
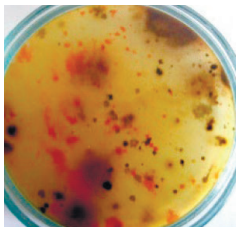
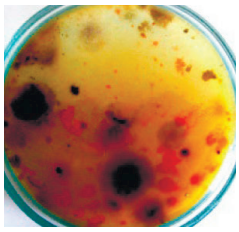
Ягоды крыжовника сорта	Разведение	
	10^1	10^2
Сенатор 	Лицевая сторона	
		Нет роста
	Лицевая сторона	
	   	
	Обратная сторона	
	   	
Розовый 2 	Лицевая сторона	
		Нет роста
	Лицевая сторона	
	   	
	Обратная сторона	
	   	

Таблица 4. Характеристика микобиоты ягод крыжовника (посев в селективную среду Сабуро с левомицетином)

Table 4. Gooseberry mycobiota in Sabouraud agar with chloramphenicol

Микобиота	Вариант хранения				
	0	I/1	I/2	II/1	II/2
Сорт Сенатор					
Присутствие выделенных родов от общей численности родов, %, в том числе	70,00	60,00	80,00	50,00	70,00
дрожжи	14,30	16,67	12,50	0	0
дрожжеподобные грибы	42,85	33,33	37,50	50,00	42,86
мицелиальные грибы	42,85	50,00	50,00	50,00	57,14
Сорт Розовый 2					
Присутствие выделенных родов от общей численности родов, %, в том числе	66,70	22,22	33,33	66,70	66,70
дрожжи	33,33	50,00	0	16,67	16,67
дрожжеподобные грибы	16,67	0	0	50,00	33,33
мицелиальные грибы	50,00	50,00	100,00	33,33	50,00

Примечание: 0 – свежесобранные, температура 25 ± 2 °С, относительная влажность воздуха 67–72 %; I/1 – 3 сутки хранения, температура 18 ± 2 °С, относительная влажность воздуха 90–95 %; I/2 – 18 сутки хранения, температура 18 ± 2 °С, относительная влажность воздуха 90–95 %; II/1 – 3 сутки хранения, температура 4 ± 2 °С, относительная влажность воздуха 90–95 %; II/2 – 18 сутки хранения, температура 4 ± 2 °С, относительная влажность воздуха 90–95 %.

Note: 0 – freshly harvested, 25 ± 2°C, 67–72% relative humidity; I/1 – 3 days of storage at 18 ± 2°C and 90–95% relative humidity; I/2 – 18 days of storage at 18 ± 2°C and 90–95% relative humidity; II/1 – 3 days of storage at 4 ± 2°C and 90–95% relative humidity; II/2 – 18 days of storage at 4 ± 2°C and 90–95% relative humidity.

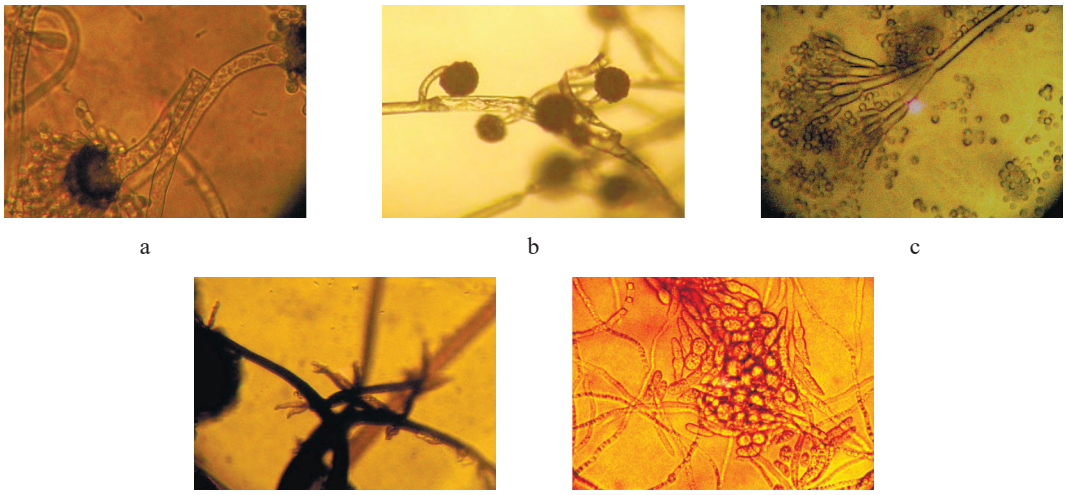
Таблица 5. Родовая структура микобиоты ягод крыжовника, %

Table 5. Generic structure of gooseberry mycobiota, %

Рода	Вариант хранения					Частота доминирования	Частота встречаемости
	0	I/1	I/2	II/1	II/2		
Сорт Сенатор							
Aspergillus	6,67	2,60	3,97	5,00	1,59	0	100,0
Mucor	3,33	0	1,98	0	0	0	40,0
Penicillium	3,33	3,89	4,64	1,25	14,28	0	100,0
Rhizopus	0	0	0	0	1,59	0	
Fusarium	0	0,65	1,32	4,37	1,59	0	80,0
Alternaria	3,33	14,28	15,23	1,25	31,75	0	100,0
Aureobasidium	6,67	0	17,88	15,63	6,35	0	80,0
Cladosporium	16,67	77,27	49,67	72,50	42,85	40,0	100,0
Cryptococcus	0	1,30	5,30	0	0	0	40,0
Анаэробные дрожжи	60,0	0	0	0	0	20,0	20,0
Всего, КОЕ/г	30	154	151	160	63	–	–
Сорт Розовый 2							
Aspergillus	11,11	0	0	0	0,65	0,00	40,0
Mucor	2,22	0	0,87	2,92	1,31	0	80,0
Penicillium	0	81,65	97,70	58,39	67,97	40,0	80,0
Rhizopus	2,22	0	0,43	0	0	0	40,0
Alternaria	20,00	0	0	4,38	5,23	0	60,0
Aureobasidium	0	0	0	17,52	0	0	20,0
Cladosporium	0	0	0	8,76	15,69	0	40,0
Cryptococcus	1,44	18,35	0	8,03	9,15	0	80,0
Анаэробные дрожжи	60,0	0	0	0	0	20,0	20,0
Всего, КОЕ/г	45	158	461	137	153	–	–

Примечание: 0 – свежесобранные, температура 25 ± 2 °С, относительная влажность воздуха 67–72 %; I/1 – 3 сутки хранения, температура 18 ± 2 °С, относительная влажность воздуха 90–95 %; I/2 – 18 сутки хранения, температура 18 ± 2 °С, относительная влажность воздуха 90–95 %; II/1 – 3 сутки хранения, температура 4 ± 2 °С, относительная влажность воздуха 90–95 %; II/2 – 18 сутки хранения, температура 4 ± 2 °С, относительная влажность воздуха 90–95 %.

Note: 0 – freshly harvested, 25 ± 2°C, 67–72% relative humidity; I/1 – 3 days of storage at 18 ± 2°C and 90–95% relative humidity; I/2 – 18 days of storage at 18 ± 2°C and 90–95% relative humidity; II/1 – 3 days of storage at 4 ± 2°C and 90–95% relative humidity; II/2 – 18 days of storage at 4 ± 2°C and 90–95% relative humidity.

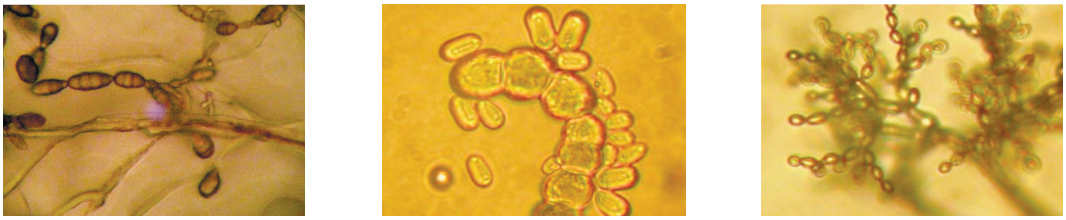


a b c

d e

Рисунок 1. Микроморфология мицелиальных грибов, выделенных из ягод крыжовника (×400): a – *Aspergillus* spp.; b – *Mucor* spp.; c – *Penicillium* spp.; d – *Rhizopus* spp.; e – *Fusarium* spp.

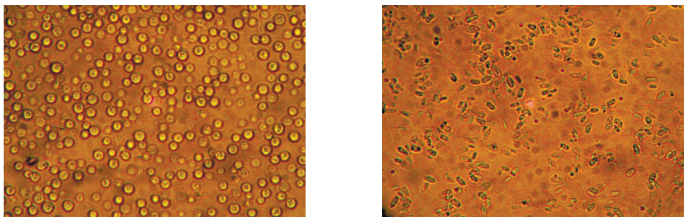
Figure 1. Micromorphology of filamentous fungi isolated from gooseberry (×400): a – *Aspergillus* spp.; b – *Mucor* spp.; c – *Penicillium* spp.; d – *Rhizopus* spp.; e – *Fusarium* spp.



a b c

Рисунок 2. Микроморфология дрожжеподобных грибов, выделенных из ягод крыжовника (×400): a – *Alternaria* spp.; b – *Aureobasidium* spp.; c – *Cladosporium* spp.

Figure 2. Micromorphology of yeast-like fungi isolated from gooseberries (×400): a – *Alternaria* spp.; b – *Aureobasidium* spp.; c – *Cladosporium* spp.



a b

Рисунок 3. Микромолфология дрожжей, выделенных из ягод крыжовника (×400): a – *Cryptococcus* spp.; b – анаэробные дрожжи

Figure 3. Micromolphology of yeast isolated from gooseberries (×400): a – *Cryptococcus* spp.; b – anaerobic yeast

дрожжеподобных грибов и 14,28 % дрожжей (табл. 4). Из них 100 %-ная частота встречаемости выявлена для мицелиальных грибов родов *Penicillium* и *Aspergillus*, дрожжеподобных – *Alternaria* и *Cladosporium*. Доминировали грибы семейства *Dematiaceae* рода *Cladosporium* и анаэробные дрожжи, представляющие собой белые блестящие колонии, очень мелкие почкующиеся дрожжевые клетки, не формирующие гиф и псевдогиф, обилие которых составляло 60,0 % от всего грибного сообщества.

После 3-х суток хранения при температуре 18 ± 2 °С численность изолятов от начальной возросла в 5 раз за счет грибов рода *Alternaria*, численность которых увеличилась в 3,5 раза, и рода *Cladosporium* – в 4 раза. Был выявлен рост грибов рода *Fusarium* и дрожжей рода *Cryptococcus*. Отсутствовал рост грибов рода *Mucor*, *Aureobasidium* и анаэробных дрожжей.

После 18 суток хранения в микобиоте наблюдали развитие грибных зародышей всех выявленных родов, за исключением рода *Rhizopus* и анаэробных дрожжей. Произошла смена статуса грибов – типично «доминирующие» грибы рода *Cladosporium* перешли в группу типично «частых».

В ягодах после 3-х суток хранения при температуре 4 ± 2 °С отметили рост дрожжеподобных (до 50,0 %) и мицелиальных (до 50,0 %) грибов, но отсутствие дрожжей. Численность изолятов увеличилась в 5 раз за счет повышения численности грибов семейства *Dematiaceae* рода *Cladosporium* в 4 раза и рода *Aureobasidium* в 2 раза. Выявили рост грибов рода *Fusarium*. Доминировали грибы рода *Cladosporium*, обилие которых составило 72,5 %.

После 18 суток хранения в микобиоте выявлено 70,0 % родов от всего грибного сообщества, из них 57,14 % отнесены к мицелиальным и 42,86 % к дрожжеподобным. Истинные дрожжи в микобиоте ягод отсутствовали. Суммарно доминировали грибы семейства *Dematiaceae* родов *Cladosporium* и *Alternaria*, обилие которых составило 42,85 и 31,7 % соответственно.

В микобиоте ягод крыжовника сорта Розовый 2 всех исследуемых образцов выделено 954 изолята грибов, отнесенных к 9 родам (табл. 5). В свежесобранных ягодах выявлено 66,7 % родов грибного сообщества, из них к мицелиальным отнесено 50,00 % (рода *Mucor*, *Aspergillus* и *Rhizopus*), дрожжеподобным – 16,67 % (род *Alternaria*), к дрожжам 33,33 % (род *Cryptococcus* и анаэробные дрожжи).

В микобиоте после 3-х суток хранения при температуре 18 ± 2 °С отметили резкое сокращение численности родов грибов до 22,22 %, из них 50,00 % отнесены к группе мицелиальных грибов – род *Penicillium* (обилие 81,65 %) и 50,00 % к дрожжам – род *Cryptococcus* (обилие 18,35 %).

После 18 суток хранения в микобиоте ягод выявлено 33,33 % родов от всей численности родов, где присутствовали только мицелиальные грибы – 100,0 %. Доминировали грибы рода Pe*nicillium* (обилие 98,7 %), минимально присутствовали грибы родов *Mucor* (обилие 0,87 %) и *Rhizopus* (обилие 0,43 %).

После 3-х суток хранения ягод при температуре 4 ± 2 °С отметии сохранение первоначального присутствия (66,70 %) общего количества выявленных родов грибов. Из них в мицелиальную группу (33,33 %) вошли грибы родов *Penicillium* (обилие 58,39 %) и *Mucor* (2,92 %), дрожжеподобную (50,00 %) – рода *Aureobasidium*, *Cladosporium* и *Alternaria* (их обилие составило 17,52, 8,76 и 4,38 % соответственно), дрожжей (16,67 %) рода *Cryptococcus*.

После 18 суток хранения наблюдали снижение количества дрожжеподобных грибов (до 33,33 %) с одновременным увеличением мицелиальных до 50,00 %, доминировали грибы рода *Penicillium* (обилие 67,97 %). Количество дрожжей не изменялось.

Провели дисперсионный анализ для выявления степени влияния сорта ягод крыжовника, температуры и продолжительности их хранения на микобиоту. Результаты представлены в таблицах 6 и 7.

Выявили низкое влияние факторов («А» – сорт ягод крыжовника, «В» – температура хранения, «С» – срок хранения) на численность выделенных родов микобиоты ягод крыжовника, в том числе мицелиальных грибов (табл. 6). Фактор «А» существенно влиял на развитие дрожжей (29,45 %) и дрожжеподобных грибов (36,72 %) микобиоты ягод крыжовника, фактор «В» только дрожжеподобных грибов (22,36 %). Для количественных изменений микобиоты, в том числе мицелиальных грибов, ягод крыжовника значимо взаимодействие факторов «АВ» (39,06 и 21,61 % соответственно), несущественно – «АС» и «ВС». Численность родов дрожжей и дрожжеподобных грибов практически не зависела от взаимодействия исследуемых факторов.

Данные таблицы 7 свидетельствуют о том, что на увеличение численности в микобиоте ягод крыжовника

Таблица 6. Значимость факторов, влияющих на микобиоту ягод крыжовника, % (p = 0,05)

Table 6. Factors that affect gooseberry mycobiota, % (p = 0.05)

Микобиота	Влияние фактора						$НСР_{0,5}$					
	A	B	C	AB	AC	BC	A	B	C	AB	AC	BC
Присутствие выделенных родов от общей численности родов, %, в том числе	9,76	2,37	7,71	39,06	0	0	3,58	3,58	4,38	5,06	6,19	6,19
дрожжи	29,45	1,64	12,70	0	1,13	14,31	2,89	2,89	3,54	4,09	5,01	5,01
дрожжеподобные грибы	36,72	22,36	0	12,33	0	15,88	2,22	2,22	2,72	3,14	3,85	3,85
мицелиальные грибы	0	3,60	15,25	21,61	0,78	0	3,65	3,65	4,47	5,16	6,32	6,32

Примечание: фактор «А» – сорт ягод крыжовника; фактор «В» – температура хранения; фактор «С» – срок хранения.

Note: factor A – variety; factor B – storage temperature; factor C – storage time.

Таблица 7. Значимость факторов, влияющих на родовую структуру микобиоты ягод крыжовника, % (p = 0,05)

Table 7. Factors that affect generic structure of gooseberry mycobiota, % (p = 0.05)

Рода	Влияние фактора						$НСР_{0,5}$					
	A	B	C	AB	AC	BC	A	B	C	AB	AC	BC
Aspergillus	0	0	60,92	0	32,32	0	3,38	3,38	4,14	4,78	5,85	5,85
Mucor	0	0	34,06	18,88	16,73	10,79	1,94	1,94	2,38	2,74	3,36	3,36
Penicillium	39,84	0,51	20,09	2,61	33,22	0	2,45	2,45	3,00	3,46	4,24	4,24
Rhizopus	5,88	0	14,18	0	58,41	0	1,45	1,45	1,77	2,05	2,51	2,51
Fusarium	30,45	1,84	5,62	3,67	11,25	0	2,58	2,58	3,16	3,64	4,46	4,46
Alternaria	0	0	2,60	0	70,91	2,12	1,80	1,80	2,20	2,54	3,11	3,11
Aureobasidium	13,95	4,25	3,26	1,57	14,51	54,17	0,77	0,77	0,94	1,09	1,33	1,33
Cladosporium	57,33	0	15,80	1,67	23,09	0	1,41	1,41	1,72	1,99	2,44	2,44
Cryptococcus	17,75	0	1,87	0	4,66	0	1,47	1,47	1,80	2,08	2,55	2,55
Анаэробные дрожжи	0	0	1,00	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Всего	7,45	7,45	28,10	2,11	20,32	19,19	14,90	14,90	18,25	21,08	25,81	25,81

Примечание: фактор «А» – сорт ягод крыжовника; фактор «В» – температура хранения; фактор «С» – срок хранения.

Note: factor A – variety; factor B – storage temperature; factor C – storage time.

существенно влиял фактор «А» (сорт): дрожжеподобные грибы рода *Cladosporium* (57,33 %), мицелиальные грибы родов *Penicillium* (39,84 %) и *Fusarium* (30,45 %); фактор «С» (срок хранения) – мицелиальные грибы родов *Aspergillus* (60,92 %), *Mucor* (34,06 %) и *Penicillium* (20,09 %). Взаимодействие факторов «АС» (сорта и срока хранения) существенно влияло на количество выявленных родов грибов микобиоты ягод крыжовника – дрожжеподобной группы родов *Alternaria* (70,91 %) и *Cladosporium* (23,09 %), мицелиальной группы родов *Rhizopus* (58,41 %), *Penicillium* (33,22 %) и *Aspergillus* (32,32 %). Только на дрожжеподобные грибы рода *Aureobasidium* микобиоты ягод крыжовника значительно влияло взаимодействие факторов «ВС» (54,17 %). Факторы «А» и «С», взаимодействие факторов «АС» и «ВС» на численность других выявленных родов грибов микобиоты ягод крыжовника оказывали минимальное влияние. Фактор «В» (температура хранения), как и взаимодействие факторов «АВ» (сорта и температуры хранения), практически не влияли на численность выявленных родов грибных сообществ микобиоты ягод крыжовника.

Корреляционный анализ показал тесную связь между увеличением численности родов грибов микобиоты сорта Сенатор с продолжительностью хранения (r = 0,90, P = 0,95 %), среднюю – с температурой хранения (r = 0,30, P = 0,95 %). В микобиоте сорта Розовый 2 выявили тесную связь между количеством выделенных родов грибов с длительностью хранения (r = 0,9, P = 0,95 %), слабую – с температурой хранения (r = 0,30, P = 0,95 %).

Выводы

В составе микобиоты ягод крыжовника сорта Сенатор идентифицировали 10 родов грибов, Розовый 2 – 9. В составе микобиоты ягод крыжовника выявили гифомицеты семейства *Dematiaceae* родов *Cladosporium*, *Aureobasidium* и *Alternaria*. Из мукоровых идентифицировали изоляты рода *Mucor*, обнаружили присутствие эдафитных грибов рода *Penicillium* и дрожжей рода *Cryptococcus*, а также анаэробных дрожжей. По частоте встречаемости доминировали в составе микобиоты ягод сорта Сенатор представители родов *Penicillium*, *Alternaria*, *Aspergillus*, *Cladosporium* и *Fusarium*, Розовый 2 – *Mucor*, *Penicillium* и *Cryptococcus*. В составе микобиоты ягод крыжовника сортов Сенатор и Розовый 2 не выявили аскомицетов (несовершенные грибы).

В результате проведенных исследований установлено, что ягоды крыжовника характеризовались различием состава микро- и микобиоты, зависящие от множества факторов. Наибольшее влияние на изменение состава микробиоты ягод крыжовника оказывала продолжительность хранения, а минимальное сорт и температура хранения.

Установлено, что в процессе хранения на развитие дрожжей и дрожжеподобных грибов влиял сорт ягод, на развитие мицелиальных грибов – сорт и температуры хранения. На численность грибов родов *Cladosporium*, *Penicillium* и *Fusarium* существенно влиял сорт, на *Aspergillus*, *Mucor* и *Penicillium* – срок хранения, на *Alternaria*, *Cladosporium*, *Rhizopus*, *Penicillium* и *Aspergillus* – сорт и срок хранения, на *Aureobasidium* – температура и срок хранения.

Данное исследование расширяет объем научных знаний о составе микобиоты ягод крыжовника вида *Ribes uva-crispa* L., а также его изменениях в процессе хранения, позволяет выбирать и использовать превентивные мероприятия для предотвращения порчи продукции и потенциального риска для потребителей. Полученные в рамках работы данные следует учитывать при последующих исследованиях, направленных на изучение состава микобиоты ягод крыжовника,

в зависимости от других факторов (вида и типы упаковки, влажности, помологических сортов, стадий зрелости и пр.), которые влияют на определение оптимальных условий хранения и сроков годности ягод, предназначенных для промышленной переработки и реализации в торговой розничной сети.

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.

References/Список литературы

1. Akimov MYu. New breeding and technological evaluation criteria for fruit and berry products for the healthy and dietary food industry. Problems of Nutrition. 2020;89(4):244–254. (In Russ.). https://doi.org/10.24411/0042-8833-2020-10057; https://www.elibrary.ru/ZDWZMY

2. Newman G. Fruit and vegetables: Prevention and cure? In: Short E, editor. A prescription for healthy living. A guide to lifestyle medicine. Academic Press; 2021. pp. 243–253. https://doi.org/10.1016/B978-0-12-821573-9.00022-9

3. Yahia EM, Fonseca JM, Kitinoja L. Postharvest losses and waste. In: Yahia EM, editor. Postharvest technology of perishable horticultural commodities. Woodhead Publishing; 2019. pp. 43–69. https://doi.org/10.1016/B978-0-12-813276-0.00002-X

4. Sedova IB, Chalyy ZA, Efimochkina NR, Sokolov IE, Koltsov VA, Zhidekhina TV, *et al.* Mycotoxin contamination of fresh berries and fruits marketed in the central region of Russia. Health Risk Analysis. 2022;(4):87–99. (In Russ.). https://doi.org/10.21668/health.risk/2022.4.08; https://www.elibrary.ru/TBZOVR

5. Ngolong Ngea GL, Qian X, Yang Q, Dhanasekaran S, Ianiri G, Ballester A-R, *et al.* Securing fruit production: Opportunities from the elucidation of the molecular mechanisms of postharvest fungal infections. Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety. 2021;20(3):2508–2533. https://doi.org/10.1111/1541-4337.12729

6. Zhang H, Boateng NAS, Ngolong Ngea GL, Shi Y, Lin H, Yang Q, *et al.* Unravelling the fruit microbiome: The key for developing effective biological control strategies for postharvest diseases. Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety. 2021;20(5):4906–4930. https://doi.org/10.1111/1541-4337.12783

7. Balali GI, Yar DD, Dela VGA, Adjei-Kusi P. Microbial contamination, an increasing threat to the consumption of fresh fruits and vegetables in today's world. International Journal of Microbiology. 2020;2020:3029295. https://doi.org/10.1155/2020/3029295

8. Mendes RJ, Sario S, Luz JP, Tassi N, Teixeira C, Gomes P, *et al.* Evaluation of three antimicrobial peptides mixtures to control the phytopathogen responsible for fire blight disease. Plants. 2021;10(12):2637. https://doi.org/10.3390/plants10122637

9. Çağlayan K, Roumi V, Gazel M, Elçi E, Acioğlu M, Mavric Plesko I, *et al.* Identification and characterization of a novel *Robigovirus* species from sweet cherry in Turkey. Pathogens. 2019;8(2):57. https://doi.org/10.3390/pathogens8020057

10. Razo Sh, Panferov VG, Safenkova IV, Drenova NV, Varitsev YuA, Zherdev AV, *et al.* Development of an immunochromatographic test system with nanozyme amplification for detecting the phytopathogen *Erwinia amylovora*. Achievements of Science and Technology in Agro-Industrial Complex. 2022;36(1):34–39. (In Russ.). https://doi.org/10.53859/02352451_2022_36_1_34; https://www.elibrary.ru/JHIGCR

11. Oliveira M, Rodrigues CM, Teixeira P. Microbiological quality of raw berries and their products: A focus on foodborne pathogens. Heliyon, 2019;5(12):e02992. https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2019.e02992

12. Gomzhina MM, Gasich EL, Gagkaeva TYu, Gannibal PhB. Biodiversity of fungi inhabiting blueberry growing in North-West Russia and Finland. Mycology and Phytopathology. 2021;55(5):353–370. (In Russ.). https://doi.org/10.31857/S0026364821050056; https://www.elibrary.ru/NMBBZV

13. Bano A, Gupta A, Prusty MR, Kumar M. Elicitation of fruit fungi infection and its protective response to improve the postharvest quality of fruits. Stresses. 2023;3(1):231–255. https://doi.org/10.3390/stresses3010018

14. Petrasch S, Silva CJ, Mesquida-Pesci SD, Gallegos K, van den Abeele C, Papin V, *et al.* Infection strategies deployed by *Botrytis cinerea*, *Fusarium acuminatum*, and *Rhizopus stolonifer* as a function of tomato fruit ripening stage. Frontiers in Plant Science. 2019;10:223. https://doi.org/10.3389/fpls.2019.00223

15. Kłapeć T, Wócik-Fatla A, Farian E, Kowalczyk K, Cholewa G, Cholewa A, *et al.* Mycobiota of berry fruits – levels of filamentous fungi and mycotoxins, composition of fungi, and analysis of potential health risk for consumers. Annals of Agricultural and Environmental Medicine. 2022;29(1):28–37. https://doi.org/10.26444/aaem/147297

16. Ráduly Z, Szabó L, Madar A, Pócsi I, Csernoch L. Toxicological and medical aspects of *Aspergillus*-derived mycotoxins entering the feed and food chain. Frontiers in Microbiology. 2020;10:2908. https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.02908

17. Wu Y, Yin C, Huang R, He M, Duan X, Jiang Y, *et al.* Enhanced resistance in "shatang" mandarin fruit against *Penicillium italicum* caused by 2-methoxy-1, 4-naphthoquinone. Physiological and Molecular Plant Pathology. 2022;119:101828. https://doi.org/10.1016/j.pmpp.2022.101828

18. Aitymbet Zh, Urmanov GA, Sypabekkyzy G, Rakhimova EV. Species composition of the mycobiota of the Sievers apple tree (*Malus sieversii* (Ledeb) M. Roem.) in Kazakhstan. Problems of Botany of South Siberia and Mongolia. 2021; (20–1):17–22. (In Russ.). https://doi.org/10.14258/pbssm.2021003; https://www.elibrary.ru/QAALRA

19. Vybornova MV, Polunina TS, Lavrinova VA. Micobiota of currant berries. Proceedings of the North Caucasus Federal Scientific Center for Horticulture, Viticulture, and Winemaking. 2020;29:122–126. (In Russ.). https://doi.org/10.30679/2587-9847-2020-29-122-126; https://www.elibrary.ru/FYWMIE

20. Gómez-Albarrán C, Melguizo C, Patiño B, Vázquez C, Gil-Serna J. Diversity of mycobiota in spanish grape berries and selection of *Hanseniaspora uvarum* U1 to prevent mycotoxin contamination. Toxins. 2021;13(9):649. https://doi.org/10.3390/toxins13090649

21. Zhidekhina TV, Lavrinova VA, Polunina TS. Mycological profiling of raspberry cultivars in storage. Horticulture and Viticulture. 2020;(6):40–45. (In Russ.). https://doi.org/10.31676/0235-2591-2020-6-40-45; https://www.elibrary.ru/LFIYKW

22. Rodrigues P, Driss JO, Gomes-Laranjo J, Sampaio A. Impact of cultivar, processing and storage on the mycobiota of European chestnut fruits. Agriculture. 2022;12(11):1930. https://doi.org/10.3390/agriculture12111930

23. Hussein MA, El-Said AHM, Yassein AS. Mycobiota associated with strawberry fruits, their mycotoxin potential and pectinase activity. Mycology. 2020;11(2):158–166. https://doi.org/10.1080/21501203.2020.1759719

24. Quaglia M, Santinelli M, Sulyok M, Onofri A, Covarelli L, Beccari G. *Aspergillus*, *Penicillium* and *Cladosporium* species associated with dried date fruits collected in the Perugia (Umbria, Central Italy) market. International Journal of Food Microbiology. 2020;322:108585. https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2020.108585

25. Akimov MYu, Bessonov VV, Kodentsova VM, Eller KI, Vrzhesinskaya OA, Beketova NA, *et al.* Biological value of fruits and berries of Russian production. Problems of Nutrition. 2020;89(4):220–232. (In Russ.). https://doi.org/10.24411/0042-8833-2020-10055; https://www.elibrary.ru/UOAQLM

26. Erbil N, Murathan Z, Arslan M, İlçim A. Comparison of some biochemical content and biological activities of gooseberry (*Ribes uva-crispa* L.) and alpine currant (*Ribes alpinum* L.). Adnan Menderes Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi. 2021;18(2):197–203. (In Turkish). https://doi.org/10.25308/aduziraat.907968

27. Orsavová O, Hlaváčová I, Mlček J, Snopek L, Mišurcová L. Contribution of phenolic compounds, ascorbic acid and vitamin E to antioxidant activity of currant (*Ribes* L.) and gooseberry (*Ribes uva-crispa* L.) fruits. Food Chemistry. 2019; 284:323–333. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.01.072

28. Maslov AV, Mingaleeva ZSh, Yamashev TA, Shibaeva NF. Effect of a complex plant additive on flour mixes and wheat dough. Food Processing: Techniques and Technology. 2022;52(3):511–525. (In Russ.). https://doi.org/10.21603/2074-9414-2022-3-2385; https://www.elibrary.ru/UBJCWH

29. Motovilova NV, Davydenko NI, Golub OV, Chekryga GP, Motovilov OK. The qualitative qualitative characteristics of pastille based on gooseberry puree. Technology and Merchandising of the Innovative Foodstuff. 2022;74(3):93–99. (In Russ.). [Качественные характеристики пастилы на основе пюре из крыжовника / Н. В. Мотовилова [и др.] // Технология и товароведение инновационных пищевых продуктов. 2022. Т. 74. № 3. С. 93–99.]. https://www.elibrary.ru/VEOGXN

30. Limonnikova SG, Velichko NA. Development of new types of preserves with gooseberry sauce. Bulletin of KSAU. 2021;169(4):127–132. (In Russ.). https://doi.org/10.36718/1819-4036-2021-4-127-132; https://www.elibrary.ru/ULIKHT

31. Magomedov RK. Disinfection of berries. Proceedings of the Kuban State Agrarian University. 2021;92:148–152. (In Russ.). https://doi.org/10.21515/1999-1703-91-148-152; https://www.elibrary.ru/QULTGQ

32. Prosekov AYu, Golubtsova YuV. Diagnosis of fruit and berry raw materials using DNA-test systems. Storage and Processing of Farm Products. 2019;(1):98–105. (In Russ.). [Просеков А. Ю., Голубцова Ю. В. Диагностика плодово-ягодного сырья с помощью ДНК-тест-систем // Хранение и переработка сельхозсырья. 2019. № 1. С. 98–105.]. https://www.elibrary.ru/IZBXLS

33. Panstruga R, Kuhn H. Mutual interplay between phytopathogenic powdery mildew fungi and other microorganisms. Molecular Plant Pathology. 2018;20(4):463–470. https://doi.org/10.1111/mpp.12771

34. Bilay VI, Koval′ EhZ. Aspergillus. Kiev: Naukova dumka; 1988. 204 p. (In Russ.). [Билай В. И., Коваль Э. З. Аспергиллы. К.: Наукова думка, 1988. 204 с.].

35. Egorova LN. Soil fungi of the Far East: Hyphomycytes. Leningrad: Nauka; 1986. 191 p. (In Russ.). [Егорова Л. Н. Почвенные грибы Дальнего Востока: Гифомициты. Л.: Наука, 1986. 191 с.].

36. Pidoplichko NM. Penicillin: keys to identify species. Kiev: Naukova dumka; 1972. 150 p. (In Russ.). [Пидопличко Н. М. Пенициллин: (ключи для определения видов). К.: Наукова думка, 1972. 150 с.].

37. Satton D, Fotergill A, Rinal′di M. Determining pathogenic and opportunistic pathogenic fungi. Moscow: Mir; 2001. 468 p. (In Russ.). [Саттон Д., Фотергилл А., Ринальди М. Определитель патогенных и условно патогенных грибов. М.: Мир, 2001. 468 с.].

38. Bilay VI. Methods of experimental mycology. Kiev: Naukova dumka; 1982. 550 p. (In Russ.). [Билай В. И. Методы экспериментальной микологии. К.: Наукова думка, 1982. 550 с.].

39. Mirchink TG, Ozerskaya SM, Marfenina OE. Identifying complexes of microscopic soil fungi by their structure. Biological Sciences. 1982;(1):61–69. (In Russ.). [Мирчинк Т. Г., Озерская С. М., Марфенина О. Е. Выявление комплексов микроскопических почвенных грибов по их структуре // Биологические науки. 1982. № 1. С. 61–69.].

40. Chekryga GP, Motovilov KYa. Mycobiota of bee products. Mycology and Phytopathology. 2011;45(2):158–163. (In Russ.). [Чекрыга Г. П., Мотовилов К. Я. Микобиота продуктов пчеловодства // Микология и фитопатология. 2011. Т. 45. № 2. С. 158–163.]. https://www.elibrary.ru/NWYLCR

41. Sorokin OD. Applied Statistics on a Computer. Krasnoobsk: GUP RPO SO RASKHN; 2004. 162 p. (In Russ.). [Сорокин О. Д. Прикладная статистика на компьютере. Краснообск: ГУП РПО СО РАСХН, 2004. 162 с.].

ISSN 2074-9414 (Print)
ISSN 2313-1748 (Online)

https://doi.org/10.21603/2074-9414-2024-2-2506
https://elibrary.ru/ZMQCHA

Оригинальная статья
https://fptt.ru

Влияние термизации и пастеризации на качество сухого молока

М. И. Алкадур*, Н. С. Пряничникова, Е. А. Юрова, А. Н. Петров

Всероссийский научно-исследовательский институт молочной промышленности, Москва, Россия

Поступила в редакцию: 05.02.2024
Принята после рецензирования: 27.02.2024
Принята к публикации: 05.03.2024

**М. И. Алкадур: m_alkadur@vnimi.org, https://orcid.org/0009-0003-3229-8550*
Н. С. Пряничникова: https://orcid.org/0000-0003-1304-1517
Е. А. Юрова: https://orcid.org/0000-0003-3369-5673
А. Н. Петров: https://orcid.org/0000-0001-9879-482X

© М. И. Алкадур, Н. С. Пряничникова, Е. А. Юрова, А. Н. Петров, 2024

Аннотация.
Сухое молоко является продуктом массового производства и потребления. Широкое применение сухого молока обуславливает многообразие требований к его качеству и технологии производства. Совершенствование технологии производства сухого обезжиренного молока – это актуальная и стратегически важная задача не только для России, но и для всего мира. Важность этого направления обусловлена дефицитом сухого обезжиренного молока низкотемпературного класса обработки, которое поставляется из-за рубежа (сухое молоко категории low-heat). Цель исследования – изучение влияния режима термизации и пастеризации на белковый профиль и микробиологические показатели сухого обезжиренного молока, а также установление параметров термического воздействия, которые обеспечивают получение сухого обезжиренного молока низкотемпературного класса термообработки.
Объектами исследования являлись сырое молоко, обезжиренное молоко, выработанное при разных режимах термической обработки, и сухое обезжиренное молоко, выработанное из этого молока. Исследовали белковый профиль и микробиологические и физико-химические показатели стандартизованными методами анализа.
В ходе исследования установили класс термической обработки сухого обезжиренного молока, выработанного при различных режимах пастеризации, и определили его биохимические и микробиологические показатели. Анализ данных показал, что сочетание режимов термизации молока (60 ± 2 °С в течение 10 с, охлаждение до 10 °С и выдержка в течение 10 ч) и низкотемпературной пастеризации (72 ± 2 °С с выдержкой 15 с) позволяет получить сухое обезжиренное молоко низкотемпературного класса, что соответствует требованиям ТР ТС 033/2013 и ГОСТ 33629-2015.
Исследовали одно из приоритетных направлений, связанное с повышением качества сухого обезжиренного молока, за счет снижения термической нагрузки при условии сохранения микробиологической безопасности готового продукта. Результаты сравнительного исследования говорят о том, что показатель термообработки позволяет установить оптимальный режим термизации и пастеризации молока, который, с одной стороны, обеспечивает необходимый класс термообработки (низкотемпературный), позволяющий сохранить белок в нативном состоянии, а с другой – гарантирует микробиологическую безопасность сухого обезжиренного молока. Выполнение этих условий позволило получить сухое молоко, по качеству относящееся к категории low-heat, т. е. низкому классу термической обработки, обеспечить высокие показатели готового продукта и придать ему дополнительные функциональные и потребительские свойства.

Ключевые слова. Обезжиренное молоко, сухое молоко, сухое обезжиренное молоко, термизация, пастеризация, белковый профиль, сывороточные белки, микробиологические показатели, термообработка

Для цитирования: Влияние термизации и пастеризации на качество сухого молока / М. И. Алкадур [и др.] // Техника и технология пищевых производств. 2024. Т. 54. № 2. С. 275–284. https://doi.org/10.21603/2074-9414-2024-2-2506

https://doi.org/10.21603/2074-9414-2024-2-2506
https://elibrary.ru/ZMQCHA

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

Effect of Thermal Treatment and Pasteurization on Milk Powder Quality

Mohammed I. Alkadour*, Nataliya S. Pryanichnikova, Elena A. Yurova, Andrey N. Petrov

All-Russian Scientific Dairy Research Institute, Moscow, Russia

Received: 05.02.2024
Revised: 27.02.2024
Accepted: 05.03.2024

**Mohammed I. Alkadour: m_alkadur@vnimi.org, https://orcid.org/0009-0003-3229-8550*
Nataliya S. Pryanichnikova: https://orcid.org/0000-0003-1304-1517
Elena A. Yurova: https://orcid.org/0000-0003-3369-5673
Andrey N. Petrov: https://orcid.org/0000-0001-9879-482X

© M.I. Alkadour, N.S. Pryanichnikova, E.A. Yurova, A.N. Petrov, 2024

Abstract.
Milk powder is a commercial product of mass consumption. Its popularity means a variety of quality and production requirements. New methods of skimmed milk powder production are strategically important for the food industry in Russia and worldwide. Russia is currently experiencing a shortage of low-heat milk powder import. The research featured the effect of thermal treatment and pasteurization mode on the protein profile and microbiological parameters of skimmed milk powder. The research objective was to establish the thermal variables for low-heat milk powder.

The study involved raw milk, skimmed milk produced under different heat treatment conditions, and skimmed milk powder obtained from this milk. The authors used standard analytical methods to define the protein profile, as well as the microbiological and physicochemical parameters.

A set of experiments made it possible to classify the heat treatment of skimmed milk powder produced under various milk pasteurization modes, as well as to establish its biochemical and microbiological parameters. The optimal mode for low-heat milk powder was a combination of thermal treatment (60 ± 2°C for 10 s followed by cooling to 10°C for 10 h) and low-temperature pasteurization (72 ± 2°C for 15 s). The powder obtained met the Technical Regulations of Customs Union TR CU 033/2013 and State Standard 33629-2015.

A lower thermal load maintains the microbiological safety of milk powder while preserving its quality. In this study, the optimal thermal treatment and pasteurization mode yielded milk powder of low-heat category, thus preserving the native protein and microbiological safety. As a result, the low-heat milk powder acquired some high-quality functional and consumer properties.

Keywords. Skimmed milk, milk powder, skimmed milk powder, thermal treatment, pasteurization, protein profile, whey proteins, microbiological indicators, heat treatment

For citation: Alkadour MI, Pryanichnikova NS, Yurova EA, Petrov AN. Effect of Thermal Treatment and Pasteurization on Milk Powder Quality. Food Processing: Techniques and Technology. 2024;54(2):275–284. (In Russ.). https://doi.org/10.21603/2074-9414-2024-2-2506

Введение

Сухое молоко обладает высокой биологической и пищевой ценностью, которые практически полностью сохраняются в молочных продуктах при его использовании в качестве сырья [1, 2]. Это определяет высокую востребованность сухого цельного и сухого обезжиренного молока в мировой торговле: суммарный оборот сухого обезжиренного молоко составляет порядка 250 тыс. т. Сегодня Российская Федерация производит около 230 тыс. т сухого молоко, в том числе 117 тыс. т сухого обезжиренного молоко и еще около 20 тыс. тонн поступает по импорту [1, 3]. Особое значение сухое молоко имеет для снабжения полноценными молочными продуктами населения регионов Крайнего севера. Также сухое молоко дает возможность стабильно производить и бесперебойно обеспечивать население молочными продуктами в период экстремальных ситуаций и неблагоприятных природных, социальных и политических катаклизмов. Диапазон применения сухого цельного и сухого обезжиренного молока в пищевом производстве широк и многообразен, начиная с восстановленных и сухих молочных продуктов, в том числе для специализированного и детского питания, и заканчивая мясными и алкогольными изделиями.

Производство сухого молока регламентировано действующим межгосударственным стандартом ГОСТ 33629-2015, в котором закреплены основные показатели качества и безопасности, и ГОСТ 34255-2017 [4]. В зависи-

мости от назначения меняются требования к показателям качества сухого молока, к его функциональным и технологическим свойствам. Показатели качества сухого молока формируются в ходе технологического процесса его производства, начиная с требований к сырью и заканчивая условиями и сроками хранения готового продукта. Наиболее высокие требования предъявляются к качеству сухого молока для детского и специализированного питания, в том числе энтерального. Для таких продуктов важное и определяющее значение имеют структурные изменения, которые происходят в процессе производства сухого молока, а именно его наиболее ценной части – белковой составляющей [4]. Критерием оценки состояния белковой фракции сухого молока является класс термической обработки (термообработки) [6].

В зарубежной практике качество сухого молока определяется термином low-heat (низкотемпературное). Данный термин отражает не только дополнительные требования к продукту, но и определенный уровень технологии производства, основанный на принципах минимального температурного воздействия на молоко по всей производственной цепочке с целью максимального сохранения полезных свойств исходного молока. В отечественной практике сухое молоко классифицируют в соответствии со стандартом ISO 6735-2011, согласно которому сухое молоко подразделяют на три класса тепловой обработки: низкотемпературный, умеренно температурный и высокотемпературный [7]. Однако отсутствует обязательная маркировка класса термообработки, а производители по ряду технических и технологических причин не готовы выпускать сухое молоко низкотемпературного класса. В связи с этим значительная доля такого молока поступает в Россию по импорту.

В детском и специализированном питании, а также в категории продуктов инстантного приготовления применяют сухое молоко низкотемпературного класса термообработки. В связи с этим разработка технологии сухого молока низкотемпературного класса термообработки является актуальной задачей.

Цель работы – изучить влияние режима термизации и пастеризации на белковый профиль и микробиологические показатели сухого обезжиренного молока, а также установить параметры термического воздействия, которые обеспечивают получение сухого обезжиренного молока низкотемпературного класса термообработки.

Рабочая гипотеза – применение термизации с последующими охлаждением, выдержкой и низкотемпературной пастеризацией с определением временных и термических характеристик, которые обеспечивают микробиологическую безопасность продукта, сохранность структуры и нативных свойств белковой фракции сухого молока. Гипотеза основывается на следующих положениях:

1. Несмотря на интенсивное тепловое воздействие в процессе распылительной сушки и сгущения (температура греющего воздуха составляет 160–190 °С, температура сгущения – 60–62 °С), они не являются основными факторами, которые влияют на структурные изменения в белковой фракции (денатурация) сухого обезжиренного молока и снижение исходной концентрации микроорганизмов [8–10]. Современные представления связывают структурные изменения сухого молока с температурой пастеризации и сводятся к прямой зависимости: чем ниже температура пастеризации, тем меньшим изменениям подвергаются белки молока [8, 11–13]. Однако при снижении температуры пастеризации возрастают риски, связанные с микробиологической безопасностью продукта, которые на территории стран Таможенного союза регламентируются нормативными документами, обязательными к применению и исполнению [14–16];

2. Включение в технологическую линейку производства сухого молока процесса термизации, при котором осуществляется предварительная обработка молока при температуре от 55 до 62 °С с выдержкой менее 30 с и последующей обязательной пастеризацией, влияющей на белки молока [7, 17–21]. Термизация позволяет значительно снизить общее количество микроорганизмов и бактерий, относящихся к санитарно-гигиеническим микроорганизмам. Выдержка термизированного молока в течение 8–10 ч при температуре 10 °С может активизировать отдельные виды микроорганизмов и перевести генеративную форму микроорганизмов в вегетативную, а применение низкотемпературной пастеризации обеспечит их ингибирование;

3. Качественные и количественные изменения белковой фракции молока влияют на потребительские свойства сухого молока, его термоустойчивость, насыпную плотность, количество пригорелых частиц, растворимость и т. д. [3, 6, 19–21]. Чем выше температура пастеризации, тем больше белков молока переходит в денатурированное состояние. Большинство сывороточных белков молока термолабильно, начало их денатурации наступает при температуре 60 °С и выше [20]. Белковые молекулы остаются в растворимой форме и при коагуляции осаждаются совместно с мицеллами казеина [3, 4, 19–21].

На практике термизацию можно применять только в комбинации с обязательной последующей пастеризацией молока. Применение данного вида термической обработки с последующими охлаждением, выдержкой и низкотемпературной пастеризацией позволит решить две важные задачи: обеспечить микробиологическую безопасность продукта и максимально сохранить структуру и нативные свойства белковой фракции сухого молока. Основываясь на этой рабочей гипотезе, разработали программу исследования.

Объекты и методы исследования

Объектами исследования являлись сырое молоко, обезжиренное молоко, выработанное при разных режимах термической обработки, и сухое обезжиренное молоко, выработанное из этого молока.

В ходе производственного эксперимента выработали шесть партий сухого обезжиренного молока общим объемом 35 000 кг. Охлажденное молоко нагревали,

сепарировали, пастеризовали, сгущали на вакуум-выпарной установке циркуляционного типа производительностью 4000 кг по испаренной влаге в час и сушили на сушилке распылительного типа производительностью 500 кг испаренной влаги в час (температура греющего воздуха 170 °С, выходящего 75 °С). В производственном эксперименте обезжиренное молоко перед сгущением подвергали термической обработке. Режимы термообработки и соответствующие условные обозначения приведены в таблице 1.

Выработку опытных партий осуществляли на производственной площадке ООО «НОВАЯ ИЗИДА» г. Пенза. Сырьем для производства сухого обезжиренного молока служило молоко первого сорта по требованиям ГОСТ Р 52054-2023. При отборе сырого молока, наряду со стандартными показателями качества, были предъявлены дополнительные требования: кислотность не выше 18 °Т и термоустойчивость по алкогольной пробе не ниже первой группе.

Физико-химические и микробиологические исследования, контроль выработанных партий обезжиренного и сухого обезжиренного молока осуществляли в ИЛ «МОЛОКО» ФГАНУ «ВНИМИ», на кафедре Технологии молока, пробиотических молочных продуктов и сыроделия ФГБОУ ВО «РОСБИОТЕХ» и в производственной лаборатории ООО «НОВАЯ ИЗИДА». В исследованиях применяли стандартизованные методы анализа. Контроль производственного цикла осуществляли на всех этапах от переработки до фасовки сухого обезжиренного молока.

Изменения структуры и состава белков обезжиренного и сухого обезжиренного молока оценивали по содержанию общего азота и небелкового азота, белковому профилю и классу термообработки. Содержание общего белка, сывороточных и казеиновых белков, небелкового азота определяли методом Кьельдаля согласно стандартизованным методикам измерений, приведенным в ГОСТ 34454, ГОСТ 34536, СТБ ISO 17997-1 и ГОСТ Р 55246. Класс термообработки оценивали по принятому в международной практике показателю термообработки (Н). Данный показатели рассчитывали по соотношению азота в скоагулированном комплексе сывороточных белков и казеина, а также азота в неденатурированном сывороточном белке. Метод основан на осаждении казеина и денатурированного при нагревании белка молочной сыворотки в определенном объеме восстановленного сухого молока при pH 4,8 ± 0,3 путем добавления раствора уксусной кислоты, а затем раствора ацетата натрия. Осадок промывали и определяли в нем содержание общего азота (на основании объема, эквивалентного объему стандартного титрованного раствора) по методу Кьельдаля (СТБ ISO 6735-2011). Белковый профиль сывороточных белков устанавливали методом диск-электрофореза в полиакриламидном геле по ГОСТ 33528-2015.

Исследовали микробиологические показатели: КМАФАнМ, БГКП, споры аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов, патогенные микроорганизмы, в том числе сальмонелла и листерии (*Listeria monocitogenes* и *Listeria* spp.), *Staphylococcus aureus*, дрожжи и плесени. Для определения основных микробиологических показателей применяли ГОСТ 32901-2014. Количество дрожжей и плесневых грибов определяли по ГОСТ 33566-2015, стафилококков *S. aureus* – по ГОСТ 30347-2016, грамотрицательных бактерий палочковидной формы семейства *Enterobacteriaceae salmonella* – по ГОСТ ISO 6785-2015. Наличие или отсутствие листерий *Listeria* spp. и *L. monocitogenes* в определенной массе и объеме продукта устанавливали по ГОСТ 32031-2022. Для контроля влияния термической обработки на провоцирование роста условно-патогенных видов микроорганизмов и их ингибирование провели исследования на модельных образцах обезжиренного молока с начальной контаминацией микроорганизмов *Escherichia coli* 1×10^5 КОЕ/см^3.

Результаты и их обсуждение

Исследования влияния термической обработки на физико-химические и микробиологические показатели проводили в два этапа. На первом этапе объектом

Таблица 1. Режимы термической обработки обезжиренного молока

Table 1. Heat treatment modes for skimmed milk

Обезжиренное молоко	Сухое обезжиренное молоко	Режимы	
		Температура, °С	Продолжительность выдержки, с
ОМ 1 (контроль)	СОМ 1	45 ± 2	–
ОМ 2	СОМ 2	72 ± 2	15
ОМ 3*	СОМ 3*	72 ± 2	15
ОМ 4	СОМ 4	80 ± 2	15
ОМ 5	СОМ 5	85 ± 2	15
ОМ 6	СОМ 6	96 ± 2	15

*Обезжиренное молоко ОМ 3 термизировали при 60 ± 2 °С в течение 10 с, охлаждали до 10 °С и хранили при этой температуре в течение 10 ч, затем направляли на пастеризацию при 72 ± 2 °С с выдержкой 15 с.

*The OM 3 sample contained skimmed milk heated at 60 ± 2°C for 10 s, then cooled to 10°C and stored at this temperature for 10 h before being sent for pasteurization at 72 ± 2°C for 15 s.

исследования являлось обезжиренное молоко, на втором – сухое обезжиренное молоко. Белковый профиль и микробиологические показатели определяли на всех этапах исследования.

Результаты первого этапа исследования образцов обезжиренного молока, подвергнутых термическому воздействию, и контроля (ОМ 1) по показателям азота и содержанию белка приведены в таблице 2.

При повышении температуры обработки молока с 45 °С (ОМ 1) до 96 °С (ОМ 6) содержание неденатурированного сывороточного белка обезжиренного молока уменьшилось с 0,64 до 0,21 %. Содержание массовой доли казеина и денатурированного сывороточного белка практически пропорционально возросло с 2,60 до 3,03 %. Можно предположить, что определенный в образце ОМ 6 казеин содержит денатурированные сывороточные белки, которые не осаждаются при проведении разделения белка и образовывают комплекс с казеиновой фракцией белка.

Критерием оценки термического воздействия на белок обезжиренного молока, по аналогии с оценкой класса термообработки сухого молока, мы приняли показатель термообработки (Н) (СТБ ISO 6735-2011). Данный показатель отражает соотношение между общим азотом в осажденном казеиновом комплексе и азотом в неденатурированной части сывороточных белков анализируемого образца. Соответственно, чем выше показатель термообработки, тем значительнее изменения в составе белка молока. Значения показателей термообработки и соотношения казеина и денатурированного сывороточного белка к неденатурированному сывороточному белку коррелируют между собой и повышаются при температуре 80 ± 2 °С и выше. Полученные результаты свидетельствуют о том, что режим термообработки обезжиренного молока в исследуемом диапазоне температур практически не влияет на содержание общего белка и общего азота, а также незначительно сказывается на содержании небелкового азота.

Провели дополнительные исследования в отношении неденатурированных сывороточных белков. Их белковый профиль приведен на рисунке 1.

Таблица 2. Содержание азота, общего белка и его фракций в обезжиренном молоке

Table 2. Nitrogen, total protein, and its fractions in skimmed milk

Показатель, %	Образцы					
	ОМ 1 (контроль)	ОМ 2	ОМ 3	ОМ 4	ОМ 5	ОМ 6
Массовая доля общего азота	0,535	0,536	0,536	0,536	0,538	0,538
Массовая доля небелкового азота	0,0266	0,0271	0,0273	0,0270	0,0283	0,0290
Массовая доля казеинового и денатурированного сывороточного белкового азота	0,408	0,413	0,415	0,432	0,459	0,475
Массовая доля общего белка	3,24	3,24	3,24	3,25	3,25	3,25
Массовая доля фракции неденатурированных сывороточных белков	0,64	0,61	0,59	0,49	0,32	0,21
Массовая доля казеина и денатурированного сывороточного белка	2,60	2,64	2,65	2,76	2,93	3,03
Соотношение казеина и денатурированного сывороточного белка к неденатурированному сывороточному белку	4,07	4,35	4,47	5,63	9,18	14,10
Показатель термообработки	76,30	77,19	77,55	80,64	85,43	88,34

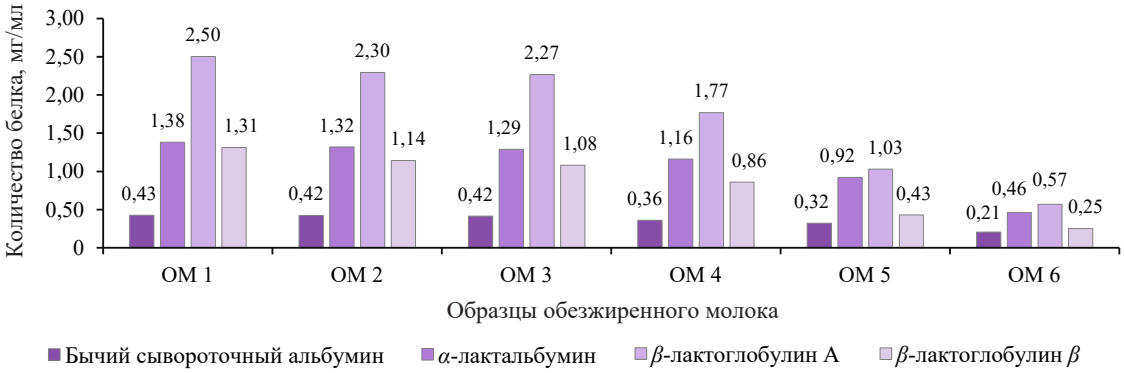


Рисунок 1. Белковый профиль обезжиренного пастеризованного молока

Figure 1. Protein profile of pasteurized skimmed milk

Повышение температуры пастеризации обезжиренного молока приводит к уменьшению массовой доли неденатурированных сывороточных белков за счет снижения фракций α-лактальбумина, β-лактоглобулина А, β-лактоглобулина β и бычьего сывороточного альбумина. Наиболее выраженно эта тенденция проявляется при температурах выше 72 °С. Влияния термизации при идентичных режимах пастеризации (72 ± 2 °С с выдержкой 15 с) на изменение белкового профиля не обнаружено.

Влияние пастеризации и термизации на содержание микроорганизмов в обезжиренном молоке приведено в таблице 3. Микробиологические показатели контрольного образца (непастеризованного молока) содержали на два и три порядка выше КМАФАнМ (КОЕ/см^3), чем обезжиренное молоко, прошедшее пастеризацию. В контрольном образце обнаружено наличие дрожжей и плесеней. Введение дополнительной термической операции в виде термизации позволило, при идентичных условиях пастеризации, сократить количество вегетативных форм микроорганизмов.

Объектом второго этапа исследования являлось сухое обезжиренное молоко, выработанное из соответствующего обезжиренного молока (табл. 1). В таблице 4 приведены данные физико-химических показателей шести партий сухого обезжиренного молока. Тенденции и закономерности влияния термической обработки на содержание общего азота и массовой доли общего белка, денатурированного и неденатурированного сывороточного белка, выявленные в результате термической обработки обезжиренного молока, сохранились в сухом обезжиренном молоке (табл. 4). Показатель термообработки позволил соотнести режим пастеризации обезжиренного молока с показателем термообработки и классом термообработки сухого обезжиренного молока. В результате СОМ 2 и СОМ 3, выработанные из обезжиренного молока с режимом пастеризации 72 ± 2 °С и выдержкой 15 с, по показателю термообработки (Н ниже 80,0) соответствовали низкотемпературному классу термообработки. Образец, прошедший термизацию, имел более низкий показатель термообработки. Режим пастеризации обезжиренного молока 80 ± 2 °С с выдержкой 15 с позволил получить сухое обезжиренное молоко умеренного класса термообработки. Сухое обезжиренное молоко с температурой пастеризации 96 ± 2 °С соответствовало высокотемпературному классу.

Результаты исследования белкового профиля неденатурированных сывороточных белков сухого обезжиренного молока приведены на рисунке 2.

Выявленное незначительное снижение, по сравнению с обезжиренным молоком, содержания неденатурированных и рост денатурированных сывороточных белков в сухом обезжиренном молоке укладывается в рамки погрешности проведения промышленного эксперимента. Анализ белкового профиля сухого обезжиренного молока свидетельствует о том, что последующие за пастеризацией обезжиренного молока технологические операции (сгущение и сушка) значимого влияния на структурные изменения в составе сывороточных белков не оказывают. В таблице 5 представлены результаты микробиологических исследований сухого обезжиренного молока.

Пастеризация обезжиренного молока снизила начальную контаминацию КМАФАнМ, дрожжей и плесеней на два порядка и эффективное воздействие на БГКП как в обезжиренном, так и в сухом обезжиренном молоке. Отметили, что в контрольных и исследуемых образцах микроорганизмы рода сальмонелл, листерии и *Staphylococcus aureus* отсутствуют. В исследовании не было выявлено значимого влияния режима пастеризации на споровые формы микроорганизмов.

Таблица 3. Микробиологические показатели пастеризованного обезжиренного молока

Table 3. Microbiological parameters of pasteurized skimmed milk

Показатели	Образцы					
	ОМ 1 (контроль)	ОМ 2	ОМ 3	ОМ 4	ОМ 5	ОМ 6
КМАФАнМ, КОЕ/см^3	$2{,}8\times10^5$	$5{,}3\times10^3$	$4{,}7\times10^3$	$4{,}2\times10^3$	$4{,}0\times10^3$	$2{,}6\times10^3$
БГКП	обнаружено в 0,001 см^3	не обнаружено в 10 см^3	не обнаружено в 10 см^3	не обнаружено в 10 см^3	не обнаружено в 10 см^3	не обнаружено в 10 см^3
Патогенные микроорганизмы, в т. ч. сальмонелла и *Listeria monocitogenes*, в 25 см^3	не обнаружено	не обнаружено	не обнаружено	не обнаружено	не обнаружено	не обнаружено
Staphylococcus aureus в 1 см^3	не обнаружено	не обнаружено	не обнаружено	не обнаружено	не обнаружено	не обнаружено
Количество спор аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов, КОЕ/г	$5{,}1\times10^2$	$4{,}7\times10^2$	$4{,}5\times10^2$	$4{,}9\times10^2$	$5{,}2\times10^2$	$4{,}6\times10^2$
Дрожжи и плесени, КОЕ/см^3	40 90	< 5 < 5	< 5 < 5	< 5 < 5	< 5 < 5	< 5 < 5

Важным результатом данного исследования являлось отсутствие провоцирования роста споровой микрофлоры в готовом продукте. Результаты исследований модельных образцов обезжиренного молока с внесенными условно-патогенных микроорганизмами *Escherichia coli* в количестве 1×10^5 КОЕ/см^3 показали, что режим термизации и низкотемпературной пастеризации 72 ± 2 °С с выдержкой 15 с обеспечивает отсутствие провоцирования роста и полноту ингибирования таких микроорганизмов.

Результаты исследования обезжиренного и сухого обезжиренного молока показали, что введение режима термизации обезжиренного молока и низкотемпературной пастеризации приводит к отсутствию в готовом продукте дрожжей, плесеней и БГКП, а также на один-два порядка снижается количество КМАФАнМ.

Таблица 4. Содержание азота, общего белка и его фракций в сухом обезжиренном молоке

Table 4. Nitrogen, total protein, and its fractions in skimmed milk powder

Показатель, %	Образцы					
	СОМ 1 (контроль)	СОМ 2	СОМ 3	СОМ 4	СОМ 5	СОМ 6
Массовая доля общего азота	5,81	5,81	5,82	5,81	5,82	5,81
Массовая доля небелкового азота	0,317	0,315	0,320	0,310	0,294	0,311
Массовая доля казеинового и денатурированного сывороточного белкового азота	4,50	4,54	4,54	4,72	5,03	5,20
Массовая доля общего белка	35,07	35,07	35,06	35,10	35,22	35,09
Массовая доля фракции неденатурированных сывороточных белков	6,37	6,11	6,10	4,99	3,15	1,90
Массовая доля казеина и денатурированного сывороточного белка	28,71	28,97	28,97	30,11	32,08	33,19
Соотношение казеина и денатурированного сывороточного белка к неденатурированному сывороточному белку	4,51	4,75	4,75	6,03	10,19	17,49
Показатель термообработки	77,39	78,12	78,07	81,20	86,47	89,54
Класс термообработки	низко-температурная	низко-температурная	низко-температурная	умеренная	умеренно высоко-температурная	высоко-температурная

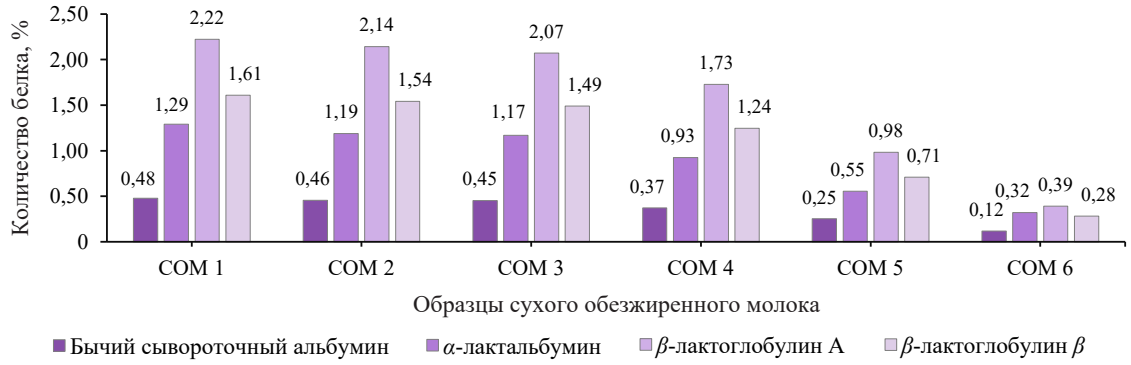


Рисунок 2. Белковый профиль сухого обезжиренного молока

Figure 2. Protein profile of skimmed milk powder

Таблица 5. Микробиологические показатели сухого обезжиренного молока

Table 5. Microbiological parameters of skimmed milk powder

Показатели	Образцы					
	СОМ 1 (контроль)	СОМ 2	СОМ 3	СОМ 4	СОМ 5	СОМ 6
КМАФАнМ, КОЕ/г	$8{,}5\times10^4$	$3{,}5\times10^3$	$2{,}9\times10^3$	$2{,}76\times10^3$	$2{,}5\times10^3$	3×10^3
БГКП в 0,1 г	не обнаружено	не обнаружено	не обнаружено	не обнаружено	не обнаружено	не обнаружено
Патогенные микроорганизмы, в т. ч. сальмонелла и *Listeria monocitogenes*, в 25 г	не обнаружено	не обнаружено	не обнаружено	не обнаружено	не обнаружено	не обнаружено
Staphylococcus aureus в 1 г	не обнаружено	не обнаружено	не обнаружено	не обнаружено	не обнаружено	не обнаружено
Количество спор аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов, КОЕ/г	$7{,}0\times10^2$	$7{,}2\times10^2$	$6{,}5\times10^2$	$7{,}4\times10^2$	$7{,}1\times10^2$	$6{,}7\times10^2$
Дрожжи и плесени, КОЕ/г	10 70	< 5 < 5	< 5 < 5	< 5 < 5	< 5 < 5	< 5 < 5

Выводы

Полученные в ходе двухэтапных исследований результаты позволяют сделать вывод и подтвердить правильность предложенной рабочей гипотезы. Исходя из полученных нами данных, можно утверждать, что предварительная термизация при идентичных условиях пастеризации (72 °С) если не снижает термическую нагрузку на белки молока, то достоверно ее не повышает. Режим термизации в сочетании с низкотемпературной пастеризацией способствует снижению начальной обсемененности КМАФАнМ, БГКП, дрожжей и плесеней, не провоцирует рост остаточной микрофлоры и способствует получению безопасного для потребления продукта.

Наше исследование косвенно подтвердил ранее полученный вывод Г.-Д. Мюнха и др. о том, что влияние распылительной сушки на снижение исходной концентрации микроорганизмов, в том числе термофильных, незначительно [22]. На денатурацию белка способны влиять многие факторы: кислотность, механическое воздействие, нарушение солевого баланса и т. д. [13]. В данной работе при прочих равных условиях нас интересовал температурный фактор. Результаты исследования фракционного состава белка обезжиренного и сухого обезжиренного молока позволяют подтвердить, что приоритетное влияние на белки молока оказывает режим пастеризации. Большинство исследователей придерживается мнения о том, что тепловая денатурация β-лактоглобулина – наиболее многочисленной фракции сывороточных белков – проходит два этапа [12, 20, 23]. Первый этап – это переход из глобулярного в развернутую форму, второй этап – это агрегация данной молекулы.

Качественные и количественные изменения белковой фракции молока влияют на потребительские показатели сухого молока [10, 15]. При сравнительном анализе результатов термообработки обезжиренного и сухого обезжиренного молока установлено, что сгущение в вакуум-выпарной установке и процесс сушки значимого влияния на структуру белка не оказывают. Эти результаты коррелируют с ранее полученными выводами [9, 24]. Большинство сывороточных белков молока термолабильно, начало их денатурации наступает при температуре 60 °С и выше [12]. Белковые молекулы остаются в растворимой форме и при коагуляции осаждаются совместно с мицеллами казеина, что нашло подтверждение в наших исследованиях [12, 15, 21]. Эти изменения значительно влияют на качество сухого обезжиренного молока. Основываясь на экспериментальных данных, которые приведены в данной работе, можно сделать вывод о том, что тепловое воздействие на молоко при 72 ± 2 °С и ниже позволяет получить сухое обезжиренное молоко низкотемпературного класса термической обработки. Температура пастеризации выше 80 ± 2 °С значимо снижает содержание неденатурированных фракций α-лактальбумина, β-лактоглобулина А, β-лактоглобулина β и бычьего сывороточного альбумина.

Сочетание режима термизации молока (60 ± 2 °С в течение 10 с, охлаждение до 10 °С и выдержка в течении 10 ч) и низкотемпературной пастеризации (72 ± 2 °С с выдержкой 15 с) позволяет получить сухое обезжиренное молоко низкотемпературного класса, которое будет соответствовать требованиям ТР ТС 033/2013 и ГОСТ 33629-2015. Применение термизации и низкотемпературной пастеризации решает две важные для повышения качества сухого молока задачи: минимизировать тепловое воздействие на белки молока и обеспечить микробиологическую безопасность готового продукта. Полученные в работе закономерности влияния режимов теплового воздействия, включая термизацию обезжиренного молока, на фракционный состав белков, их термоустойчивость и микробиологические показатели позволили установить режимы термизации и пастеризации, которые дают возмож-

ность получать сухое обезжиренное молоко низкотемпературного класса термообработки.

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.

References/Список литературы

1. Milk powder market in the CIS in 2019–2023 and a forecast for 2024–2028 [Internet]. [cited 2023 Dec 20]. Available from: https://businesstat.ru/catalog/id7829

2. Radaeva IA, Kruchinin AG, Turovskaya SN, Illarionova EE, Bigaeva AV. Forming technological traits of dry milk. Vestnik of MSTU. Scientific Journal of Murmansk State Technical University. 2020;23(3):280–290. (In Russ.). https://doi.org/10.21443/1560-9278-2020-23-3-280-290; https://elibrary.ru/TPFHLR

3. Russian market of milk powder and dry mixes. June 2023. Development forecast until 2027 [Internet]. [cited 2024 Jan 01]. Available from: https://dzen.ru/a/ZNuEzV16MWg_Rvok

4. Radaeva IA, Illarionova EE, Turovskaya SN, Ryabova AE, Galstyan AG. Principles of domestic dry milk quality assurance. Food Industry. 2019;(9):54–57. (In Russ.). https://doi.org/10.24411/0235-2486-2019-10145; https://elibrary.ru/EPADVS

5. Prosekov AYu, Kurbanova MG. Analysis of the composition and properties of milk proteins for the purpose of use in various industry industry. Food Processing: Techniques and Technology. 2009;15(4):68a–71. (In Russ.). [Просеков А. Ю., Курбанова М. Г. Анализ состава и свойств белков молока с целью использования в различных отраслях пищевой промышленности // Техника и технология пищевых производств. 2009. Т. 15. № 4. С. 68а–71.]. https://elibrary.ru/KYYQQJ

6. Kobzeva TV, Yurova EA. Assessment of the quality indices and identification of milk powder characteristics. Dairy Industry. 2016;(3):32–35. (In Russ.). [Кобзева Т. В., Юрова Е. А. Оценка показателей качества и идентификационных характеристик сухого молока // Молочная промышленность. 2016. № 3. С. 32–35.]. https://elibrary.ru/VMBQQD

7. Petrov AN, Galstyan AG, Radaeva IA, Turovskaya SN, Illarionova EE, Semipyatniy VK, *et al.* Indicators of quality of canned milk: Russian and international priorities. Food and Raw Material. 2017;5(2):151–161. https://doi.org/10.21603/2308-4057-2017-2-151-161; https://elibrary.ru/YQZCDY

8. Sanchez Alan K, Subbiah J, Schmidt KA. Application of a dry heat treatment to enhance the functionality of low-heat nonfat dry milk. Journal of Dairy Science. 2019;102(2):1096–1107. https://doi.org/10.3168/jds.2018-15254

9. Khropach AI. Innovative approaches to modernizing technology and equipment for milk production. Youth science as a guarantee of innovative agro-industrial development: proceedings of the X All-Russian scientific and practical conference of students, postgraduates, and young scientists; 2018; Kursk. Kursk: Kursk State Agricultural Academy; 2019. p. 441–446. (In Russ.). [Хропач А. И. Инновационные подходы в модернизации технологии и оборудования для производства питьевого молока // Молодежная наука – гарант инновационного развития АПК: материалы X Всероссийской (национальной) научно-практической конференции студентов, аспирантов и молодых ученых. Курск, 2019. С. 441–446.]. https://elibrary.ru/OCFZKA

10. Kelly J, Kelly PM, Harrington D. Influence of processing variables on the physicochemical properties of spray dried fat-based milk powders. Lait. 2002;82(4):401–412. https://doi.org/10.1051/lait:2002019

11. Martin GJO, Williams RPW, Dunstan DE. Comparison of casein micelles in raw and reconstituted skim milk. Journal of Dairy Science. 2007;90(10):4543–4551. https://doi.org/10.3168/jds.2007-0166

12. Gun′kova PI, Gorbatova KK. Biotechnological properties of milk proteins. St. Petersburg: GIORD, 2021. 216 p. (In Russ.). [Гунькова П. И., Горбатова К. К. Биотехнологические свойства белков молока. СПб: ГИОРД, 2021. 216 с.].

13. Deeth H, Lewis M. Protein stability in sterilised milk and milk products. In: McSweeney PLH, O'Mahony JA, editors. Advanced dairy chemistry. Volume 1B: Proteins: Applied aspects. New York: Springer; 2016. pp. 247–286. https://doi.org/10.1007/978-1-4939-2800-2_10

14. Liu Y, Zhang W, Han B, Zhang L, Zhou P. Changes in bioactive milk serum proteins during milk powder processing. Food Chemistry. 2020;314:126177. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.126177

15. Sharma A, Jana AH, Chavan RS. Functionality of milk powders and milk-based powders for end use applications – A review. Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety. 2012;11(5):518–528. https://doi.org/10.1111/j.1541-4337.2012.00199.x

16. Ryabtseva SA, Ganina VI, Panova NM. Microbiology of milk and dairy products. St. Petersburg: Lan′; 2023. 192 p. (In Russ.). [Рябцева С. А., Ганина В. И., Панова Н. М. Микробиология молока и молочных продуктов. СПб: Лань, 2023. 192 с.].

17. Schröder MJA, Bland MA. Effect of pasteurization temperature on the keeping quality of whole milk. Journal of Dairy Research. 1984;51(4):569–578. https://doi.org/10.1017/S002202990003288X

18. Kelly AL, O'Connell JE, Fox PF. Manufacture and properties of milk powder. In: Fox PF, McSweeney PLH, editors. Advanced dairy chemistry: Volume 1: Proteins. New York: Springer; 2003. pp. 1027–1061. https://doi.org/10.1007/978-1-4419-8602-3_29

19. Gerasimova OA, Solovyev SV, Solovyeva YeA, Chesnokov AS. Theoretical substantiation of milk thermization process. Bulletin of Altai State Agricultural University. 2017;147(1):137–145. (In Russ.). [Теоретическое обоснование процесса термизации молока / О. А. Герасимова [и др.] // Вестник Алтайского государственного аграрного университета. 2017. Т. 147. № 1. С. 137–145.]. https://elibrary.ru/XSHISP

20. Vitushkina MA, Dulepova MA. Whey proteins of milk and their properties. Science Bulletin. 2020;5(8):51–58. (In Russ.). [Витушкина М. А., Дулепова М. А. Сывороточные белки молока и их свойства // Вестник науки. 2020. Т. 5. № 8. С. 51–58.]. https://elibrary.ru/IKOLOJ

21. Dumpler J, Huppertz T, Kulozik U. *Invited review:* Heat stability of milk and concentrated milk: Past, present, and future research objectives. Journal of Dairy Science. 2020;103(12):10986–11007. https://doi.org/10.3168/jds.2020-18605

22. Myunkh G-D, Zaupe K, Shrayter MF, Vagner K, Tsikrik K. Microbiology of animal products. Moscow: Agropromizdat; 1985. 591 p. (In Russ.). Микробиология продуктов животного происхождения / Г.-Д. Мюнх [и др.]. М.: Агропромиздат, 1985. 591 с.].

23. Turovskaya SN, Galstyan AG, Petrov AN, Radaeva IA, Illarionova EE, Semipyatniy VK, *et al.* Safety of canned milk as an integrated criterion of their technology effectiveness. Russian experience. Food Systems. 2018;1(2):29–54. (In Russ.). https://doi.org/10.21323/2618-9771-2018-1-2-29-54; https://elibrary.ru/XSLOJF

24. Oldfield DJ, Taylor MW, Singh H. Effect of preheating and other process parameters on whey protein reactions during skim milk powder manufacture. International Dairy Journal. 2005;15(5):501–511. https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2004.09.004

ISSN 2074-9414 (Print)
ISSN 2313-1748 (Online)

https://doi.org/10.21603/2074-9414-2024-2-2507
https://elibrary.ru/FZSSGB

Оригинальная статья
https://fptt.ru

Газовый масс-спектрометрический анализ промышленных йогуртов

В. С. Сибирцев[1,2,*], А. Г. Кузьмин[2], Ю. А. Титов[2], А. Ю. Зайцева[2], В. В. Шерстнёв[1]

[1] *Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет, Санкт-Петербург, Россия*

[2] *Институт аналитического приборостроения РАН, Санкт-Петербург, Россия*

Поступила в редакцию: 28.09.2023
Принята после рецензирования: 15.12.2023
Принята к публикации: 09.01.2024

**В. С. Сибирцев: vs1969r@mail.ru,*
https://orcid.org/0000-0003-0829-5213
А. Г. Кузьмин: https://orcid.org/0000-0003-4951-3301
Ю. А. Титов: https://orcid.org/0000-0002-4205-9620
А. Ю. Зайцева: https://orcid.org/0000-0002-5299-2561
В. В. Шерстнёв: https://orcid.org/0000-0001-7230-575X

© В. С. Сибирцев, А. Г. Кузьмин, Ю. А. Титов, А. Ю. Зайцева, В. В. Шерстнёв, 2024

Аннотация.
Молочная продукция является одной из основных составляющих в питании населения. Поэтому контроль качества и безопасности данной продукции имеет большее значение. Одним из эффективных инструментов такого контроля является масс-спектрометрия. Цель работы заключалась в исследовании возможности применения газового масс-спектрометрического анализа для оценки состава и качества образцов различной молочной продукции на примере промышленных йогуртов.
Объектами исследования являлись 11 образцов «свежих» и «ускоренно просроченных» йогуртов с разными пищевыми добавками. Состав и качество данных образцов оценивали с помощью разработанного в ИАП РАН малогабаритного квадрупольного газового масс-спектрометра МС7-200 с ионизацией «электронным ударом». При этом использовали методику отбора газовых выделений анализируемых образцов и используемых для их упаковки материалов, а также методику «ускоренного закисления» образцов. Проводили «интеллектуальную» математическую обработку полученных данных с использованием методов многомерного статистического анализа.
В ходе исследования вышеупомянутые образцы удалось достоверно дифференцировать (по соотношениям интенсивностей пиков при m/z = 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 64, 67, 69, 70, 71, 72, 73, 74, 84, 85 и 88 Да на масс-спектрах испарений этих образцов) не только по степени их «свежести», но и по составу и качеству использованных при изготовлении этих образцов микробиологических заквасок, молочного сырья, пищевых добавок, упаковочных материалов и т. п. При этом, исходя из оценки интенсивностей пиков в масс-спектрах испарений материалов, использованных для упаковки анализируемой продукции, был выявлен ряд упаковок, изготовленных из материалов низкого качества с повышенной потенциальной токсичностью.
Таким образом, газовая масс-спектрометрия, дополненная специально разработанными нами для анализа молочной продукции методиками (методикой отбора газовых выделений анализируемых образцов и используемых для их упаковки материалов, методикой «ускоренного закисления» образцов, методикой «интеллектуальной» математической обработки получаемых данных и т. д.), обладая целым рядом преимуществ (экспрессностью, высокой чувствительностью, селективностью и экономичностью анализа, доступностью для широкого применения и т. д.), может эффективно применяться для контроля состава и качества молочной продукции, а также материалов, использованных для упаковки этой продукции.

Ключевые слова. Молочная продукция, йогурты, пищевые добавки, упаковочные материалы, контроль качества, масс-спектрометрия, метод главных компонент, полиэтилентерефталат

Финансирование. Эта работа выполнялась в ИАП РАН в рамках государственного задания Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (Минобрнауки России) № 075-01157-23-00.

Для цитирования: Газовый масс-спектрометрический анализ промышленных йогуртов / В. С. Сибирцев [и др.] // Техника и технология пищевых производств. 2024. Т. 54. № 2. С. 285–297. https://doi.org/10.21603/2074-9414-2024-2-2507

https://doi.org/10.21603/2074-9414-2024-2-2507
https://elibrary.ru/FZSSGB

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

Gas Mass Spectrometry of Industrial Yogurts

Vladimir S. Sibirtsev[1,2,*], Alexey G. Kuzmin[2], Yuri A. Titov[2], Anna Yu. Zaitseva[2], Vladislav V. Sherstnev[1]

[1] *Saint-Petersburg State Chemical Pharmaceutical University, St. Petersburg, Russia*

[2] *Institute for Analytical Instrumentation RAS, St. Petersburg, Russia*

Received: 28.09.2023
Revised: 15.12.2023
Accepted: 09.01.2024

**Vladimir S. Sibirtsev: vs1969r@mail.ru, https://orcid.org/0000-0003-0829-5213*
Alexey G. Kuzmin: https://orcid.org/0000-0003-4951-3301
Yuri A. Titov: https://orcid.org/0000-0002-4205-9620
Anna Yu. Zaitseva: https://orcid.org/0000-0002-5299-2561
Vladislav V. Sherstnev: https://orcid.org/0000-0001-7230-575X

© V.S. Sibirtsev, A.G. Kuzmin, Yu.A. Titov, A.Yu. Zaitseva, V.V. Sherstnev, 2024

Abstract.
Food safety and quality are especially important in the dairy industry. Mass spectrometry is an effective tool of state control in this sphere. The research objective was to study the prospects for gas mass spectrometry with smart mathematical processing in assessing the composition and quality of dairy products.
The study featured 11 samples of fresh and acidified yoghurts from different manufacturers and with various starters, functional food additives, etc. These samples and their packaging were evaluated using a small-sized quadrupole gas mass spectrometer MS7-200 with electron impact ionization developed at the Institute for Analytical Instrumentation, Russian Academy of Sciences. The data obtained were mathematically processed by the method of principal components.
Based on the ratios of peak intensities at m/z = 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 64, 67, 69, 70, 71, 72, 73, 74, 84, 85, and 88 Da, the fresh and expired samples were classified not only by the degree of freshness, but also by the composition and quality of the microbiological starters, raw materials, food additives, etc. In addition, some packaging materials proved to be of poor quality.
In this study, the method of gas mass spectrometry was supplemented by the authentic methods for selecting gas emissions from yoghurts and packaging, accelerated acidification, and smart mathematical processing. The approach proved to be time-saving, sensitive, selective, available, and cost-effective. As a result, it demonstrated good potential as a means to control the composition and quality of dairy products and their packaging.

Keywords. Dairy products, yoghurts, food additives, packaging materials, mass spectrometry, quality control, principal component method, polyethylene terephthalate

Finding. The research was conducted on the premises of the Institute for Analytical Instrumentation RAS as part of state assignment from the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation (Minobrnauki) No. 075-01157-23-00.

For citation: Sibirtsev VS, Kuzmin AG, Titov YuA, Zaitseva AYu, Sherstnev VV. Gas Mass Spectrometry of Industrial Yogurts. Food Processing: Techniques and Technology. 2024;54(2):285–297. (In Russ.). https://doi.org/10.21603/2074-9414-2024-2-2507

Введение

Молочная продукция является одной из важных составляющих питания человека [1, 2]. При этом всё более важное значение в последнее время начинает иметь не только количество, но и качество упомянутой продукции. Одной из актуальных тем современных научных публикаций является то, как употребление кисломолочных продуктов влияет на состояние желудочно-кишечного тракта и сердечно-сосудистой системы человека, одной из наиболее распространенных причин патологий которых является несбалансированное питание. Сбалансированное питание в современном его понимании подразумевает не только соблюдение человеком норм потребления жиров, белков и углеводов, но и восполнение им дефицита микроэлементов, витаминов и других биологически активных веществ, которые регулируют различные метаболические процессы, протекающие в организме человека, нормальное развитие сосуществующей с ним микробиоты и т. п. Полезные бактерии, которые входят в микробиоту человека, держат под контролем не только иммунитет человека, но и многие важные метаболические процессы, протекающие в его организме (касающиеся усвоения человеком растительной пищи, являющейся основным источником незаменимых аминокислот, а также многих витаминов и других биологически активных веществ), деятельность патогенных и условно патогенных бактерий и т. д.

Бифидо- и лактобактерии являются типичными представителями нормальной микробиоты человеческого организма [3, 4]. Лактобактерии в организме человека, населяя его ротовую полость, желудок, тонкий и толстый кишечник, не только способствуют нормальному усвоению человеком различной пищи, но и являются производителями молочной кислоты и других веществ, обладающих антибиотическими свойствами. Тогда как полезные качества бифидобактерий, заселяющих кишечник человека, заключаются в поддержании иммунитета, синтезе витаминов групп В и К и т. д.

Таким образом, кисломолочные продукты (в которых в значительном количестве присутствуют жизнеспособные бифидо- и лактобактерии) не только снабжают человеческий организм необходимыми макро- и микроэлементами, биологически активными веществами и т. д., но и обеспечивают их более высокую биодоступность, способствуют развитию здоровой микробиоты человека, а также имеют много других полезных для человека профилактических и питательных свойств. Вследствие этого кисломолочные, как и иные молочные продукты, входят во все основные современные рекомендации и руководства по здоровому питанию и образу жизни человека [3–12].

Однако из-за развития технологий производства пищевой (и в частности, кисломолочной) продукции в последнее время она включает в себя, а также в материалы, используемые для ее упаковки, все большее количество функциональных добавок и иных посторонних веществ, которые имеют разное происхождение и уровни токсичности для здоровья человека. В силу многообразия и сложности состава современной пищевой продукции все труднее становится отслеживать уровни содержания в ней различных тяжелых металлов, биотоксинов, остатков агрохимикатов, микробных патогенов, пищевых добавок и других составляющих, потенциально опасных для человека и окружающей среды. Поэтому требуется разработка более эффективных инструментов для контроля качества и потенциальной токсичности, а также анализа состава и свойств различных пищевых продуктов и материалов, используемых для их упаковки [13–32].

Одним из таких инструментов является масс-спектрометрия, обладающая преимуществами широкой универсальности в отношении различных типов анализируемых образцов, сочетающейся с высокой экспрессностью, а также чувствительностью и селективностью анализа (поскольку высокотоксичные вещества даже при чрезвычайно низких уровнях содержания их в пищевых продуктах и упаковочных материалах способны неблагоприятно влиять на здоровье человека).

Благодаря этому, а также простоте, экономичности и высокой производительности анализа методы масс-спектрометрии все чаще применяются в пищевой науке и промышленности [33–42]. Образцы практически любого типа могут быть эффективно проанализированы с использованием соответствующего способа ионизации. В частности, электрораспыление и лазерная десорбция могут быть эффективно использованы при масс-спектрометрическом анализе образцов твердых пищевых продуктов. Лазерную и термодесорбцию в сочетании с предварительным экстрагированием проб предпочтительно использовать при обнаружении методом масс-спектрометрии химических веществ с низкой летучестью, содержащихся в вязких пищевых образцах (различные сыры, меды, масла и т. п.). Образцы сыпучих пищевых продуктов могут быть эффективно проанализированы с помощью внутренней экстрактивной ионизационной масс-спектрометрии с электрораспылением.

Разработка новых методов ионизации еще больше расширила области применения масс-спектрометрии в пищевой науке и промышленности. Тем не менее в этой области есть еще много не до конца решенных проблем.

В частности, газовая масс-спектрометрия (представляющая собой более простой и экономичный метод анализа в сравнении с жидкостной масс-спектрометрией) может почти однозначно идентифицировать практически любое чистое и достаточно летучее вещество. Но обычно этот метод не в состоянии идентифицировать отдельные компоненты сложных смесей различных веществ (какими являются большинство образцов пищевой продукции) без предварительного разделения компонентов этих смесей (что обусловлено чрезвычайной сложностью масс-спектров таких смесей, которые представляют собой сумму индивидуальных масс-спектров каждого компонента) [36].

С другой стороны, метод газовой хроматографии позволяет эффективно разделять испарения от очень сложных смесей [35]. Однако после того как все отдельные компоненты образца были разделены, обнаружены и определены количественно, единственными данными, доступными для идентификации каждого из них при применении данного метода, будут длительности удерживания соответствующих хроматографических пиков, что недостаточно для однозначной идентификации каждого из компонентов, особенно при анализе сложных многокомпонентных смесей, какими являются большинство современных пищевых продуктов.

Вследствие этого лишь сочетание хроматографии и масс-спектрометрии позволяет эффективно анализировать состав, токсикобезопасность и иные свойства современных продуктов питания [33, 36]. В то же время для экспресс-диагностики упомянутой продукции «в режиме реального времени» лучше подходит метод газовой масс-спектрометрии без предварительного хроматографического разделения образцов, которое усложняет и замедляет анализ. Но информационным показателем качества анализируемой продукции в этом случае становится не развернутый перечень ее компонентов, а «фингерпринт», представляющий собой аналог «отпечатка пальцев», уникального для каждого анализируемого образца, получаемый в результате «интеллектуальной» математической обработки (такой как «метод главных компонент», дискриминантный

анализ и т. п.) совокупности многомерных данных газового масс-спектрометрического анализа исследуемых образцов [37, 38, 40–43].

Также контроля требуют и материалы, используемые производителями для упаковки пищевой продукции. В частности, одним из наиболее распространенных видов пластика, используемого для изготовления одноразовых упаковок кисломолочной продукции, является полиэтилентерефталат, срок годности которого составляет 1 год. После чего этот пластик запрещено использовать повторно, поскольку он имеет слабые защитные характеристики, в частности, выделяет на жаре тяжелые металлы и другие химикаты, способные негативно влиять на организм человека). Полиэтилентерефталат пропускает внутрь упаковок ультрафиолетовые лучи и кислород, а наружу – углекислоту, что дополнительно ухудшает качество пищевой продукции, упаковываемой с помощью этого пластика, и приводит к сокращению сроков её хранения.

Целью данной работы стало исследование возможностей применения газового масс-спектрометрического анализа с последующей «интеллектуальной» математической обработкой получаемых данных для оценки состава и качества образцов различной промышленно выпускаемой молочной продукции на примере производимых разными производителями йогуртов с различными функциональными добавками, а также материалов, используемых для упаковки этих йогуртов.

Объекты и методы исследования

В качестве объектов исследования мы выбрали 11 образцов промышленно производимых йогуртов с различными добавками:

– образец № 1 – йогурт «Epica», изготовитель «Эрманн» (РФ), упаковка «PET 01»; жирность 2,9 %, белки 5,3 %, углеводы 4 %, 65 ккал в 100 мл; состав: молоко обезжиренное, сливки, молочный белок и йогуртовая закваска;
– образец № 2 – йогурт «Активиа», изготовитель «Данон» (РФ), упаковка «PET 01»; жирность 1,8 %, белки 3,4 %, углеводы 5 %, 50 ккал в 100 мл; состав: молоко нормализованное, молоко сухое, йогуртовая закваска и бифидобактерии;
– образец № 3 – йогурт «Viola», изготовитель «Виола» (РФ), упаковка «C/PAP 81»; жирность 0,4 %, белки 4,7 %, углеводы 3,9 %, 38 ккал в 100 мл; состав: молоко обезжиренное, молоко цельное, молоко сухое обезжиренное, молочный белок и йогуртовая закваска;
– образец № 4 – йогурт «Агуша», изготовитель АО «Вимм-Билль-Данн» (РФ), упаковка «PET 01»; жирность 3,2 %, белки 2,9 %, углеводы 8,7 %, 74 ккал в 100 мл; состав: молоко нормализованное, йогуртовая закваска, пробиотические бифидобактерии BB-12 и ацидофильные лактобактерии LA-5, сахар;
– образец № 5 – йогурт «Слобода», изготовитель ОАО ЭФКО (РФ), упаковка «PET 01»; жирность 2 %, белки 2,8 %, углеводы 13,3 %, 82 ккал в 100 мл; состав: нормализованное молоко, йогуртовая закваска, пробиотические лактобактерии *Lactobacillus casei*, сахар и функциональные пищевые добавки (сок лимонный, паста вишневая и пектин цитрусовый);
– образец № 6 – йогурт «Эконива», изготовитель АО «Московско-Медынское агропромышленное предприятие» (РФ), упаковка «PET 01»; жирность 2,8 %, белки 4,2 %, углеводы 4,7 %, 61 ккал в 100 мл; состав: молоко нормализованное, закваска чистых культур термофильных молочнокислых стрептококков и болгарской палочки, сахар и функциональные пищевые добавки (соки лимонный и морковный, пасты из клубники и ревеня, семена льна, пектины и натуральные ароматизаторы);
– образец № 7 – йогурт «Эконива», изготовитель АО «Московско-Медынское агропромышленное предприятие» (РФ), упаковка «PET 01»; жирность 2,5 %, белки 3,8 %, углеводы 9,3 %, 75 ккал в 100 мл; состав: молоко нормализованное, закваска чистых культур термофильных молочнокислых стрептококков и болгарской палочки, сахар и функциональные пищевые добавки (сок морковный, пасты вишневая и черешневая, семена чиа, пектины и натуральные ароматизаторы);
– образец № 8 – йогурт «Epica», изготовитель «Эрманн» (РФ), упаковка «PET 01»; жирность 2,5 %, белки 4 %, углеводы 11,9 %, 85 ккал в 100 мл; состав: молоко нормализованное, йогуртовая закваска, сахар и функциональные пищевые добавки (соки из моркови, шафрана и лимона, пасты из вишни и банана, кукурузный крахмал, камедь рожкового дерева и натуральные ароматизаторы);
– образец № 9 – йогурт «Активиа», изготовитель «Данон» (РФ), упаковка «PET 01»; жирность 1,5 %, белки 3 %, углеводы 10,1 %, 66 ккал в 100 мл; состав: молоко нормализованное, молоко сухое, йогуртовая закваска, бифидобактерии и функциональные пищевые добавки (соки яблочный и из черной моркови, пасты финиковая и вишневая, кукурузный крахмал, пектины и натуральные ароматизаторы);
– образец № 10 – йогурт «Чудо», изготовитель АО «Вимм-Билль-Данн» (РФ), упаковка «PET 01»; жирность 2,4 %, белки 2,8 %, углеводы 15 %, 93 ккал в 100 мл; состав: молоко нормализованное, молоко восстановленное, йогуртовая закваска, сахар и функциональные пищевые добавки (вишня, глюкозо-фруктозный сироп, кукурузный крахмал, пектины, кармины, лимонная кислота, цитрат натрия и натуральные ароматизаторы);
– образец № 11 – йогурт «Агуша», изготовитель АО «Вимм-Билль-Данн» (РФ), упаковка «PET 01»; жирность 2,7 %, белки 2,8 %, углеводы 9,3 %, 79 ккал в 100 мл; состав: молоко нормализованное, концентрат сывороточных белков, йогуртовая закваска, пробиотические бифидобактерии BB-12, сахар и функциональные пищевые добавки (пюре грушево-яблочное, соки яблочный, морковный и лимонный, пектины, натуральные ароматизаторы и олигофруктоза).

В процессе анализа с помощью переносных пробозаборных устройств (пластиковые шприцы объемом 10 мл) отбирали испарения от каждого образца, которые предварительно нагревали до +50 °C и инкубировали

при этой температуре в течение 10 мин, что, по сравнению с методикой, ранее применявшейся нами для подобных целей [40], позволило увеличить чувствительность анализа. Для этого протыкали крышку упаковки анализируемого образца иглой шприца так, чтобы ее конец не соприкасался с жидкой фазой анализируемого продукта, но находился от нее не более чем в 5 мм. Затем из шприца отобранная газообразная проба через химически инертную гибкую капиллярную трубку переводилась в модуль ввода проб газового квадрупольного масс-спектрометра МС7-200, разработанного в ИАП РАН А. Г. Кузьминым и Ю. А. Титовым и имеющего диапазон регистрируемых масс от 1 до 500 Да, габариты 55×16×25 см и вес 15 кг [41]. После этого с помощью упомянутого прибора регистрировались масс-спектры введенных в него проб (рис. 1).

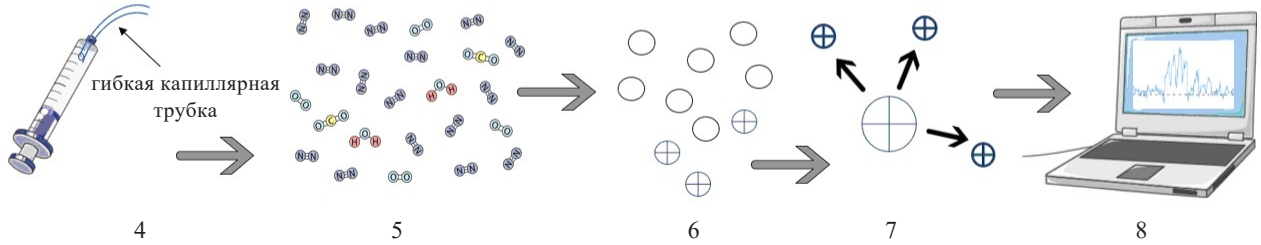
На рисунке 1 цифрами 1–8 обозначены следующие этапы масс-спектрометрического анализа исследуемых образцов: (1) отбор в шприц испарений, выделяемых исследуемым образцом; (2) доставка шприца с пробой к масс-спектрометру; (3 и 4) ввод газовой пробы через гибкую капиллярную трубку в масс-спектрометр МС7-200; (5) вид анализируемой пробы при ее вводе в МС7-200; (6) вид анализируемой пробы после ее прохождения через модуль ионизации МС7-200 (где исходно электро-нейтральные молекулы пробы преобразуются в ионы методом «электронного удара»); (7) разделение заряженных частиц (в которые была преобразована проба в модуле ионизации МС7-200) в постоянных и высокочастотных электрических полях, формируемых квадруполем МС7-200, на основе соотношений массы анализируемого иона (выражаемой в дальтонах) к его электрическому заряду (m/z) и регистрация токов (пропорциональных содержанию ионов с заданным соотношением m/z, получившихся из исходной пробы); (8) формирование масс-спектра исследуемого образца с дальнейшим выводом его на экран монитора и записью в память компьютера.

Из оставшихся в упаковке образцов в измерительные ёмкости (50 мл пластиковые одноразовые стаканчики) отливалось по 30 мл продукта. Затем упомянутые измерительные ёмкости герметично закрывались. Находящиеся в них пробы приводились в состояние «ускоренно просроченных» путем термостатирования ёмкостей с ними в течение 3-х суток при +40 °С, во время которого происходило закисление образцов за счет жизнедеятельности присутствующих в них молочнокислых микроорганизмов. После чего способом, аналогичным вышеописанному, отбирались испарения от «ускоренно просроченных» проб образцов анализируемой продукции и регистрировались их масс-спектры.

Кроме того, на приборе МС7-200 регистрировались масс-спектры газообразных выделений упаковок анализируемых образцов. Для этого данные упаковки отмывались дистиллированной водой, после чего высушивались, разрезались и помещались в сухие и чистые измерительные ёмкости (фрагменты от каждой упаковки в отдельную ёмкость). Затем ёмкости с образцами упаковочных материалов герметично закрывались, нагревались до +70 °С и инкубировались при этой температуре в течение 10 мин. После этого в шприцы отбирались пробы газообразных выделений образцов упаковочных материалов, содержащихся в упомянутых ёмкостях, для чего крышка каждой из этих ёмкостей протыкалась иглой шприца так, чтобы конец этой иглы не соприкасался ни с одной из твердых фаз измерительной ёмкости. После чего из шприцов отобранные



Процесс забора газовой пробы от исследуемого образца



Принцип действия масс-спектрометра и получения спектра масс

Рисунок 1. Этапы масс-спектрометрического анализа исследуемых образцов

Figure 1. Mass spectrometry: stages

газообразные пробы через химически инертную гибкую капиллярную трубку переводились в модуль ввода проб масс-спектрометра.

Использовавшийся нами при регистрации масс-спектров испарений анализируемых образцов прибор МС7-200 состоял из нескольких последовательно соединенных модулей: 1-й обеспечивал ввод пробы в прибор; 2-й осуществлял ионизацию пробы; 3-й представлял собой вакуумную камеру с «квадрупольным масс-анализатором»; 4-й – детектор ионов; 5-й – блок, используемый для приема и обработки информации, получаемой от 4-го модуля; 6-й – блок, используемый для контроля вакуума и управления электронными и вакуумными системами МС7-200.

Последний модуль был необходим, т. к. масс-спектрометрический анализ должен выполняться в условиях высокого вакуума, позволяющего анализируемым ионам свободно перемещаться в пространстве, не сталкиваясь и не взаимодействуя друг с другом (поскольку такие столкновения могут привести к фрагментации или трансформации анализируемых ионов, что снизит чувствительность и селективность анализа и увеличит неоднозначность измерений).

Во втором модуле МС7-200 исходно электронейтральные молекулы газообразной пробы (вводимые в МС7-200 через первый модуль) преобразовывались в заряженные ионы методом «электронного удара» (предусматривающим бомбардировку пробы пучком внешних электронов). В других подобных приборах, в зависимости от вида анализируемых проб и задач анализа, могут быть использованы другие методы ионизации, включая разные виды химической ионизации и ионизации в индуктивно-связанной плазме, поверхностную лазерную и термоионизацию и т. п.

В третьем модуле МС7-200 в формируемых квадруполем постоянных и высокочастотных электрических полях происходило разделение ионов, образовавшихся из пробы во втором модуле, по соотношениям их масс к зарядам (m/z). В других подобных приборах, в зависимости от вида анализируемых проб и задач анализа, могут быть использованы другие методы разделения ионов (включая магнитный, ионно-циклотронный, времяпролетный и т. п.).

В четвертом модуле МС7-200 для каждого соотношения m/z из заданного диапазона ионные токи (пропорциональные содержанию ионов с заданным соотношением m/z, получившихся во втором модуле из исходной пробы) усиливались, регистрировались и передавались (в виде аналоговых сигналов) в пятый модуль МС7-200 (где упомянутые сигналы преобразовывались в цифровой вид и записывались в виде масс-спектра в память компьютера).

После получения масс-спектров испарений анализируемых образцов в «свежем» и «ускоренно просроченном» виде для обработки и визуализации полученных данных в дополнение к «классическим» методам анализа использовали «метод главных компонент», более подробно описанный в работе [40].

Результаты и их обсуждение

Данные, полученные нами в результате экспериментального исследования по описанной выше методике 11 образцов «свежих» (С) и «ускоренно просроченных» (К) йогуртов с различными добавками, промышленно выпускаемых разными производителями, представлены в таблицах 1–3.

Из представленного видно, что йогурты с функциональными пищевыми добавками (образцы № 5–11) демонстрировали на масс-спектрах своих испарений большее количество и большую интенсивность пиков, чем йогурты без добавок (образцы № 1–4). В большинстве случаев большее количество и большую интенсивность пиков на масс-спектрах своих испарений демонстрировали йогурты, «ускоренно просроченные (закисленные)» нами по методике, описанной в предыдущем разделе статьи (образцы 1К–11К) в сравнении с теми же йогуртами до их «ускоренного закисления» (образцы 1С–11С).

Все исследованные йогурты без функциональных пищевых добавок (образцы № 1–4) на масс-спектрах своих испарений «в свежем виде» демонстрировали пики при m/z = 55, 56, 57, 58, 60, 64, 67, 69, 70, 71 и 72 Да. Из них, как уже отмечалось нами в работе [40], пики при m/z = 58, 60, 67 и 69 Да соответствовали присутствию в испарениях исследуемых образцов ацетона, уксусной кислоты, изопрена и высоконенасыщенного углеводорода сквалена ($C_{30}H_{50}$). Тогда как сопоставление на масс-спектрах испарений исследуемых образцов интенсивностей пиков при других m/z содержанию в этих образцах иных летучих компонентов требует дополнительных исследований.

В то же время при «закислении» образцов № 1–4 на масс-спектрах их испарений большинство пиков увеличивало свою интенсивность в 1,5–100 раз (табл. 2). Кроме того, там появлялись дополнительные пики при m/z = 59, 61, 73, 74, 84, 85 и 88 Да.

Большинство исследованных нами йогуртов с функциональными пищевыми добавками (образцы № 5–11) на масс-спектрах своих испарений «в свежем виде» демонстрировало пики при тех же массовых числах, что и образцы без функциональных пищевых добавок; плюс дополнительные пики при m/z = 61 Да (у образцов № 5, 7 и 9–11), m/z = 72 Да (у образцов № 5–11), m/z = 85 Да (у образцов № 5, 8 и 11) и m/z = 85 Да (у образцов № 5–8 и 11). В то время как при «закислении» образцов № 5–11 на масс-спектрах их испарений большинство пиков увеличивало свою интенсивность в 2–90 раз (табл. 2). Кроме того, появлялись дополнительные пики при m/z = 59 Да (у образцов № 5–11), m/z = 61 Да (у образца № 8), m/z = 73 и 74 Да (у образцов № 5, 7, 8, 10 и 11), m/z = 84 Да (у образцов № 8, 10 и 11), m/z = 85 Да (у образцов № 7 и 10) и m/z = 88 Да (у образца № 10).

Существенно различались по интенсивностям отдельных пиков при одинаковых m/z, а также по соотношению этих интенсивностей при разных m/z и образцы внутри каждой из упомянутых групп

Таблица 1. Интенсивности пиков (×10^{10}, отн.ед.) и соответствующие им «массовые числа» (m/z), зарегистрированные с помощью квадрупольного газового масс-спектрометра МС7-200, для различных по составу и «свежести» йогуртов

Table 1. Peak intensities (×10^{10}, relative units) and corresponding mass numbers (m/z) recorded with an MS7-200 quadruple gas mass spectrometer for yoghurts of different composition and freshness

Образец	Массовые числа (m/z, Да)																	
	55	56	57	58	59	60	61	64	67	69	70	71	72	73	74	84	85	88
1К	7,47*	8,27*	6,44*	3,14*	0,35	1,23*	0,37	1,08*	1,54*	3,42*	5,70*	4,08*	1,31*	0,26	0,32	2,85*	2,57*	0,31
1С	0,95*	0,88*	0,60*	1,95*	0,15	0,61*	0,18	0,57*	0,42*	0,32	0,57*	0,29	0,41*	0,13	0,15	0,22	0,23	0,14
2К	1,51*	2,33*	2,14*	1,86*	0,16	0,63*	0,29	0,47*	0,53*	0,59*	0,57*	0,60*	0,58*	0,11	0,12	0,49*	0,25	0,19
2С	0,61*	1,83*	1,14*	0,86*	0,09	0,34	0,14	0,29	0,32	0,32	0,32	0,32	0,32	0,03	0,04	0,21	0,11	0,09
3К	0,94*	2,68*	1,11*	4,45*	0,29	3,19*	1,85*	1,00*	0,53*	0,63*	2,85*	0,57*	7,70*	0,57*	0,33	0,32	0,19	0,86*
3С	0,45*	1,45*	0,56*	1,26*	0,13	0,79*	0,24	0,29	0,32	0,43*	0,47*	0,36	0,32	0,23	0,13	0,08	0,09	0,23
4К	0,57*	0,71*	0,71*	2,51*	0,32	1,31*	0,33	0,42*	0,39*	0,43*	0,48*	0,41*	0,53*	0,26	0,24	0,37	0,31	0,19
4С	0,32	0,32	0,29	1,13*	0,16	0,62*	0,13	0,29	0,27	0,29	0,29	0,27	0,32	0,12	0,11	0,21	0,16	0,09
5К	7,27*	10,3*	6,58*	9,32*	2,59*	6,13*	11,7*	3,39*	0,56	0,39	15,4*	0,42	10,7*	3,85*	2,57*	0,27	1,48*	4,22*
5С	0,69*	1,35*	1,01*	2,17*	0,25	1,10*	1,04*	0,54	0,27	0,26	1,01*	0,27	0,48	0,26	0,21	0,13	0,34	0,56
6К	0,95*	1,26*	1,89*	0,64*	0,39*	93,4*	0,19	0,49*	0,46*	0,44*	87,1*	0,48*	34,8*	0,21	0,18	0,23	0,25	48,2*
6С	0,25	0,42*	0,49*	0,33*	0,11	1,10*	0,06	0,33*	0,26	0,27	0,35*	0,26	0,35*	0,10	0,08	0,08	0,09	0,23
7К	6,36*	9,18*	6,01*	6,44*	0,80*	3,48*	15,3*	2,45*	0,43*	0,45*	18,8*	0,47*	11,7*	4,45*	1,20*	0,21	1,34*	5,36*
7С	0,79*	1,39*	1,17*	1,80*	0,13	1,20*	1,01*	0,47*	0,27	0,25	0,95*	0,25	0,33	0,22	0,23	0,07	0,19	0,32
8К	8,15*	12,2*	8,72*	10,6*	2,85*	7,13*	18,2*	3,99*	0,86*	3,42*	22,5*	5,42*	12,3*	6,56*	3,99*	0,32	2,57*	7,13*
8С	1,58*	2,84*	1,89*	2,52*	0,19	1,58*	0,03	0,63*	0,32	0,32	0,32	0,32	0,32	0,23	0,21	0,12	0,31	0,32
9К	1,26*	2,21*	1,58*	2,57*	0,31	0,79*	0,57*	0,54*	0,46*	0,57*	0,86*	0,49*	0,53*	0,19	0,15	0,29	0,13	0,29
9С	0,56*	0,71*	0,57*	1,49*	0,17	0,37*	0,27	0,34*	0,29	0,32	0,47*	0,26	0,28	0,09	0,07	0,12	0,06	0,15
10К	5,04*	7,13*	4,41*	9,41*	2,00*	7,13*	16,5*	3,14*	0,79*	2,00*	16,0*	1,71*	6,84*	5,13*	2,57*	1,10*	0,35	6,70*
10С	2,13*	2,25*	1,41*	1,89*	0,17	0,54*	0,39	0,44	0,29	1,26*	0,79*	0,41	0,28	0,19	0,09	0,23	0,11	0,16
11К	3,99*	5,70*	2,76*	2,76*	0,28	1,26*	1,43*	0,56*	0,86*	2,00*	3,71*	1,71*	0,91*	0,54*	0,37	2,00*	1,48*	0,63*
11С	0,79*	0,63*	0,32	1,73*	0,13	0,56*	0,72*	0,31	0,29	0,27	1,10*	0,32	0,32	0,24	0,16	0,09	0,36	0,42*

Примечание: * отмечены наиболее интенсивные пики на масс-спектрах анализируемых образцов. Высоко- и среднеинтенсивные пики на масс-спектрах анализируемых образцов отмечены красным и синим фоном соответствующих этим пикам ячеек таблицы. С – «свежие» образцы йогуртов, К – «ускоренно просроченные (закисленные)» образцы йогуртов.

Note: * The most intense peaks in the mass spectra are marked with a apteryx. High- and medium-intensity peaks are marked with red and blue. C – fresh yoghurt samples, K – acidified yoghurt samples.

Таблица 2. Соотношения интенсивностей пиков, зарегистрированных с помощью масс-спектрометра MC7-200, при одинаковых «массовых числах» (m/z) для различных по составу и «свежести» йогуртов

Table 2. Peak intensities recorded with an MS7-200 mass spectrometer at the same mass numbers (m/z) for yoghurts of different composition and freshness

Образцы	Массовые числа (m/z, Да)																	
	55	56	57	58	59	60	61	64	67	69	70	71	72	73	74	84	85	88
1K/1C	7,9	9,4	11	1,6	2,3	2,0	2,1	1,9	3,7	11	10	14	3,2	2,0	2,1	13	11	2,2
2K/2C	2,5	1,3	1,9	2,2	1,8	1,9	2,1	1,6	1,7	1,8	1,8	1,9	1,8	3,7	3,0	2,3	2,3	2,1
3K/3C	2,1	1,9	2,0	3,5	2,2	4,0	7,7	3,5	1,7	1,5	6,1	1,6	24	2,5	2,5	4,0	2,1	3,7
4K/4C	1,8	2,2	2,5	2,2	2,0	2,1	2,5	1,5	1,4	1,5	1,7	1,5	1,7	2,2	2,2	1,8	1,9	2,1
5K/5C	11	7,6	6,5	4,3	10	5,6	11	6,3	2,1	1,5	15	1,6	22	15	12	2,1	4,4	7,5
6K/6C	3,8	3,0	3,9	1,9	3,6	85	3,2	1,5	1,8	1,6	249	1,9	99	2,1	2,3	2,9	2,8	209
7K/7C	8,1	6,6	5,1	3,6	6,2	2,9	15	5,2	1,6	1,8	20	1,9	35	20	5,2	3,0	7,1	17
8K/8C	5,2	4,3	4,6	4,2	15	4,5	608	6,3	2,7	11	70	17	38	29	19	2,7	8,3	22
9K/9C	2,3	3,1	2,8	1,7	1,8	2,1	2,1	1,6	1,6	1,8	1,8	1,9	1,9	2,1	2,1	2,4	2,2	1,9
10K/10C	2,4	3,2	3,1	5,0	12	13	42	7,1	2,7	1,6	20	4,2	24	27	29	4,8	3,2	42
11K/11C	5,1	9,1	8,6	1,6	2,2	2,3	2,0	1,8	3,0	7,4	3,4	5,3	2,8	2,3	2,3	22	4,1	1,5
1C/4C	3,0	2,8	2,1	1,7	0,94	0,98	1,4	2,0	1,6	1,1	2,0	1,1	1,3	1,1	1,4	1,1	1,4	1,6
1K/4K	13	12	9,1	1,3	1,1	0,94	1,1	2,6	4,0	8,0	12	10	2,5	1,0	1,3	7,7	8,3	1,6
5C/4C	2,2	4,2	3,5	1,9	1,6	1,8	8,0	1,9	1,0	0,90	3,5	1,0	1,5	2,2	1,9	0,62	2,1	6,2
5K/4K	13	15	9,3	3,7	8,1	4,7	35	8,1	1,4	0,91	32	1,0	20	15	11	0,7	4,8	22
5C/9C	1,2	1,9	1,8	1,5	1,5	3,0	3,9	1,6	0,93	0,81	2,2	1,0	1,7	2,9	3,0	1,1	5,7	3,7
5K/9K	5,8	4,7	4,2	3,6	8,4	7,8	21	6,3	1,2	0,68	18	0,86	20	20	17	0,93	11	15

Примечание: Высоко- и среднеинтенсивные пики на масс-спектрах анализируемых образцов отмечены красным и синим фоном соответствующих этим пикам ячеек таблицы. С – «свежие» образцы йогуртов, К – «ускоренно просроченные (закисленные)» образцы йогуртов.

Note: High- and medium-intensity peaks are marked with red and blue. C – fresh yoghurt samples, K – acidified yoghurt samples.

Таблица 3. Соотношения интенсивностей пиков, зарегистрированных с помощью масс-спектрометра MC7-200, при разных «массовых числах» (m/z) для различных по составу и «свежести» йогуртов

Table 3. Peak intensities recorded with an MS7-200 mass spectrometer at different mass numbers (m/z) for yoghurts of different composition and freshness

Образец	Массовые числа (m/z, Да)				
	56/58	56/60	56/61	70/67	70/85
1K	2,6	6,7	22	3,7	2,2
1C	0,45	1,4	4,9	1,4	2,5
2K	1,3	3,7	8,0	1,1	2,3
2C	2,1	5,38	13	1,0	2,9
3K	0,60	0,84	1,5	5,4	15
3C	1,2	1,8	6,0	1,5	5,2
4K	0,28	0,54	2,2	1,2	1,6
4C	0,28	0,52	2,5	1,1	1,8
5K	1,1	1,7	0,88	28	10
5C	0,62	1,2	1,3	3,7	3,0
6K	2,0	0,01	6,6	189	348
6C	1,3	0,38	7,0	1,4	3,9
7K	1,4	2,6	0,60	44	14
7C	0,77	1,2	1,4	3,5	5,0
8K	1,2	1,7	0,7	26	8,8
8C	1,1	1,8	95	1,0	1,0
9K	0,86	2,8	3,9	1,9	6,6
9C	0,48	1,9	2,6	1,6	7,8
10K	0,76	1,0	0,43	20	46
10C	1,2	4,2	5,8	2,7	7,2
11K	2,1	4,5	4,0	4,3	2,5
11C	0,36	1,1	0,88	3,8	3,1

Примечание: Высоко- и среднеинтенсивные пики на масс-спектрах анализируемых образцов отмечены красным и синим фоном соответствующих этим пикам ячеек таблицы. С – «свежие» образцы йогуртов, К – «ускоренно просроченные (закисленные)» образцы йогуртов.

Note: High- and medium-intensity peaks are marked with red and blue. C – fresh yoghurt samples, K – acidified yoghurt samples.

(табл. 1–3). Причем наиболее значимо это прослеживалось у «ускоренно закисленных» образцов. Например, у образцов 1К и 4К соотношения интенсивностей пиков на масс-спектрах их испарений при m/z = 56 и 58 Да составили 2,6 и 0,28. В то время как для образцов 1С и 4С аналогичные соотношения составили 0,45 и 0,28 (табл. 3).

Таким образом, разработанный нами метод анализа позволяет уже по соотношениям интенсивностей отдельных пиков, регистрируемых с помощью газового масс-спектрометра для разных образцов кисломолочной продукции при разных m/z, достоверно различать эти образцы не только по степени их свежести, но и по составу и качеству использованных при изготовлении упомянутых образцов микробиологических заквасок, молочного сырья, функциональных пищевых добавок и т. п.

Данные по интенсивностям пиков, зарегистрированных на масс-спектрах испарений исследованных образцов при разных m/z (табл. 1), были дополнительно математически обработаны нами с помощью «метода главных компонент». В результате этого было установлено, что даже одна – первая «главная компонента» (PC1) – объясняет 59 % исходных данных. Тогда как вместе первая и вторая «главные компоненты» (PC1 и PC2) объясняют 87 % исходных данных.

$$PC1 = 0{,}30\times M_{55}^* + 0{,}31\times M_{56}^* + 0{,}30\times M_{57}^* + 0{,}29\times M_{58}^* + 0{,}28\times M_{59}^* + 0{,}28\times M_{61}^* + 0{,}30\times M_{64}^* + 0{,}17\times M_{67}^* + 0{,}29\times M_{69}^* + 0{,}25\times M_{71}^* + 0{,}29\times M_{73}^* + 0{,}29\times M_{74}^* + 0{,}27\times M_{85}^*;$$

$$PC2 = 0{,}11\times M_{59}^* + 0{,}42\times M_{60}^* + 0{,}12\times M_{61}^* - 0{,}25\times M_{67}^* - 0{,}17\times M_{69}^* + 0{,}43\times M_{70}^* - 0{,}12\times M_{71}^* + 0{,}43\times M_{72}^* + 0{,}12\times M_{73}^* + 0{,}11\times M_{74}^* - 0{,}27\times M_{84}^* - 0{,}12\times M_{85}^* + 0{,}43\times M_{88}^*;$$

$$M_{55}^* = M_{55,i} / (1/n\times\Sigma_i M_{55,i}) - 1,\ M_{56}^* = M_{56,i} / (1/n\times\Sigma_i M_{56,i}) - 1 \text{ и т. д.},$$

где $M_{55,i}$, $M_{56,i}$ и т. д. – интенсивности пиков, зарегистрированных на масс-спектрах испарений *i*-го образца при m/z = 55, 56 и т. д.; n = 11 – общее количество анализируемых образцов.

В результате этого при визуализации применения «метода главных компонент» на исходном массиве данных (рис. 2) исследуемые образцы разделились на 4 кластера; первый и второй из которых включали в себя по 4 образца «свежих» и «ускоренно закисленных» йогуртов без функциональных пищевых добавок; а третий и четвертый – по 7 образцов «свежих» и «ускоренно закисленных» йогуртов с функциональными пищевыми добавками.

На рисунке 3 представлены результаты анализа масс-спектров испарений материалов, использовавшихся для изготовления упаковок исследованных образцов. Из рисунка 3 видно, что масс-спектры испарений упаковок образцов № 1, 3, 5–7, 9 и 11 были мало интенсивны и сходны между собой. В то время как масс-спектры испарений упаковок образцов № 2, 4, 8 и 10 демонстрировали интенсивные пики при m/z = 60 Да (у образцов № 4 и 8), m/z = 84, 85 и 86 Да (у образца № 7), m/z = 53, 54, 55, 56, 67, 69, 70, 83, 84, 85 и 86 Да (у образца № 10).

Последнее может служить свидетельством того, что при изготовлении упаковок образцов № 2, 4, 8 и 10 использовались пластики хотя и той же марки «PET 01», что и у большинства исследованных образцов, но с истекшим сроком хранения, либо вторично переработанные, либо изготавливавшиеся, хранившиеся или транспортировавшиеся с нарушениями технологического регламента. Это показывает, что представляемая нами методика может быть использована в том числе и для контроля качества материалов,

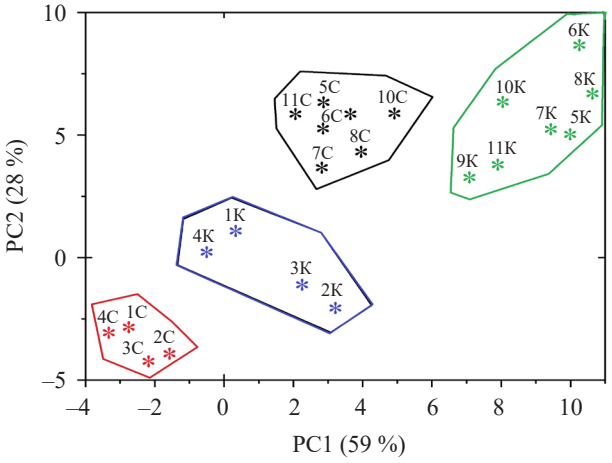


Рисунок 2. Результат визуализации массива данных, представленных в таблице 1, с помощью метода двух «главных компонент» (PC1 и PC2)

Figure 2. Table 1 visualized by the method principal components (PC1 and PC2)

используемых различными производителями для изготовления упаковок разной пищевой продукции.

Выводы

Результаты исследований образцов йогуртов, промышленно выпускаемых разными производителями с различными закваскими, функциональными пищевыми добавками и т. п., а также материалов, использованных для изготовления упаковок этих образцов, показали, что разработанный нами подход (заключающийся в отборе при нагревании испарений от образцов как в «свежем» виде, так и в «ускоренно закисленном», путем 3-х суточного термостатирования при

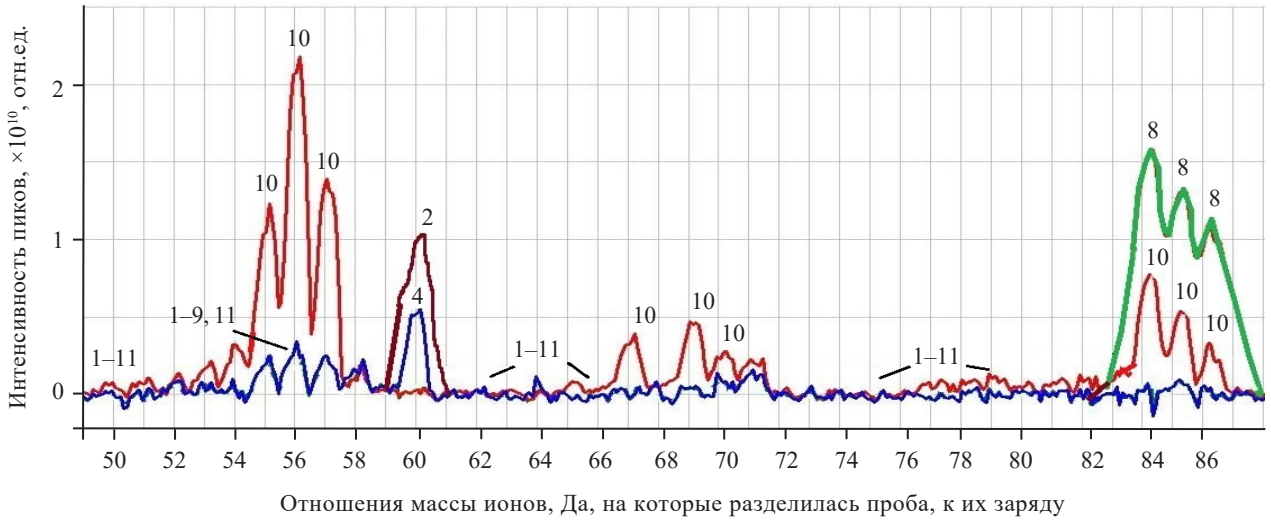


Рисунок 3. Сравнение масс-спектров испарений материалов, использованных для изготовления упаковок различных промышленно выпускаемых йогуртов, полученных с помощью газового квадрупольного масс-спектрометра МС7-200; номера образцов соответствуют указанным в таблице 1

Figure 3. Evaporation mass spectra of yoghurt packaging of various brands obtained by an MS7-200 gas quadruple mass spectrometer: sample numbers correspond to those in Table 1

+40 °C + в отборе после нагрева до +70 °C испарений от упаковок упомянутых образцов + в последующей регистрации масс-спектров этих испарений с помощью разработанного в ИАП РАН малогабаритного газового масс-спектрометра МС7-200 + в последующей «интеллектуальной» математической обработке полученных данных) может быть использован в качестве эффективного метода контроля состава и качества молочной и иной пищевой продукции (включая материалы, используемые для ее упаковки). Разработанный подход обладает такими преимуществами, как высокая экспрессность и экономичность, доступность для широкого применения, невысокие требования к квалификации оператора и т. д. Дополнительно разработанные нами методики предварительного «ускоренного закисления» анализируемых образцов молочной продукции, а также нагрева образцов и материалов, используемых производителями для упаковки этих образцов, перед пробоотбором испарений от них существенно увеличивают чувствительность и информативность такого анализа. Разработанный нами метод анализа позволяет уже даже по соотношениям интенсивностей отдельных пиков, регистрируемых с помощью газового масс-спектрометра для разных образцов кисломолочной продукции при разных m/z, достоверно различать анализируемые образцы не только по степени их свежести, но и по составу и качеству использованных при изготовлении упомянутых образцов микробиологических заквасок, молочного сырья, функциональных пищевых добавок и т. п. (табл. 1–3). Используя методы многомерного статистического анализа, это можно сделать ещё более наглядно. Например, разделяя анализируемые образцы «в пространстве главных компонент» (рис. 2). Разработанный нами подход позволяет осуществлять контроль качества материалов, используемых производителями для изготовления упаковок анализируемой пищевой продукции (отсеивая те из них, которые были изготовлены из материалов, исходно непригодных для хранения пищевой продукции, либо с истекшим сроком хранения, либо вторично переработанных, либо изготавливавшихся, хранившихся или транспортировавшихся с нарушениями технологического регламента (рис. 3)).

Критерии авторства

В. С. Сибирцев осуществлял общее планирование исследования, интерпретацию полученных данных и написание статьи. А. Г. Кузьмин и Ю. А. Титов осуществляли настройку газового масс-спектрометра и регистрацию с его помощью масс-спектров образцов. А. Ю. Зайцева осуществляла организацию исследования и проводила математическую обработку полученных данных. В. В. Шерстнёв помогал в проведении экспериментов (подготовка и закисление образцов, отбор проб их газовых выделений, доставка проб к масс-спектрометру и т. д.).

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Contribution

V.S. Sibirtsev designed the research, interpreted the data, and wrote the manuscript. A.G. Kuzmin and Yu.A. Titov configured the gas mass spectrometer and recorded the mass spectra. A.Yu. Zaitseva supervized the research

and processed the data. V.V. Sherstnev assisted in preparation and acidification of samples, sampling gas emissions, etc.

Conflict of interest

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

References/Список литературы

1. Usenko NI, Yakovleva LM, Otmakhova YuS. Information asymmetry and consumer behavior in the market of dairy products. Food Processing: Techniques and Technology. 2016;41(2):156–163. (In Russ.). [Усенко Н. И., Яковлева Л. А., Отмахова Ю. С. Информационная асимметрия и особенности потребительского поведения на рынке молочной продукции // Техника и технология пищевых производств. 2016. Т. 41. № 2. С. 156–163.]. https://www.elibrary.ru/TWZOQF

2. Shemchuk MA, Komarcheva OS, Shadrin VG. Marketing communication barriers and how to overcome them. Food Processing: Techniques and Technology. 2023;53(2):294–308. (In Russ.). https://doi.org/10.21603/2074-9414-2023-2-2433; https://www.elibrary.ru/VLDPOJ

3. Komarova ON, Havkin AI. Cultured milk foods in children's nutrition: Nutritional and biological value. Russian Bulletin of Perinatology and Pediatrics. 2017;62(5):80–86. (In Russ.). https://doi.org/10.21508/1027-4065-2017-62-5-80-86; https://www.elibrary.ru/ZRPYMB

4. Shiby VK, Mishra HN. Fermented milks and milk products as functional foods – A review. Critical Reviews in Food Science and Nutrition. 2013;53(5):482–496. https://doi.org/10.1080/10408398.2010.547398

5. Amarowicz R. Squalene: A natural antioxidant? European Journal of Lipid Science and Technology. 2009;111(5):411–412. https://doi.org/10.1002/ejlt.200900102

6. Asafov VA, Tankova HL, Iskakova EL. Functional high protein drink with casein hydrolysate and protein fractions of colostrum. Innovations and Food Safety. 2018;20(2):51–54. (In Russ.). [Асафов В. А., Танькова Н. Л., Искакова Е. Л. Функциональный высокобелковый напиток с гидролизатом казеина и белковыми фракциями молозива // Инновации и продовольственная безопасность. 2018. Т. 20. № 2. С. 51–54.]. https://www.elibrary.ru/XOVJNB

7. Donskaya GA, Drozhzhin VM, Bryzgalina VV. Fermented drinks supplemented with whey proteins and water-soluble antioxidants. Vestnik of MSTU. Scientific Journal of Murmansk State Technical University. 2018;21(3):471–480. (In Russ.). https://doi.org/10.21443/1560-9278-2018-21-3-471-480; https://www.elibrary.ru/YLAMAX

8. Zobkova ZS, Fursova TP, Zenina DV, Gavrilina AD, Shelaginova IR, Drozhin VM. Selection of the sources of biologically active substances for functional fermented milk products. Dairy Industry. 2018;(3):59–62. (In Russ.). https://doi.org/10.31515/1019-8946-2018-3-59-62; https://www.elibrary.ru/YORRFF

9. Vásquez-Mazo P, Loredo AG, Ferrario M, Guerrero S. Development of a novel milk processing to produce yogurt with improved quality. Food and Bioprocess Technology. 2019;12:964–975. https://doi.org/10.1007/s11947-019-02269-z

10. 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; https://www.elibrary.ru/NJTHXE

11. Yankovskaya VS, Dunchenko NI, Mikhaylova KV. New structured dairy products based on quality complaints and risk qualimetry. Food Processing: Techniques and Technology. 2022;52(1):2–12. (In Russ.). https://doi.org/10.21603/2074-9414-2022-1-2-12; https://www.elibrary.ru/HMLJKW

12. Wishart DS. Metabolomics: Applications to food science and nutrition research. Trends in Food Science and Technology. 2008;19(9):482–493. https://doi.org/10.1016/j.tifs.2008.03.003

13. Sibirtsev VS. Fluorescent DNA probes: Study of mechanisms of changes in spectral properties and features of practical application. Biochemistry (Moscow). 2007;7:887–900. https://doi.org/10.1134/S0006297907080111

14. Sibirtsev VS, Naumov IA, Kuprina EE, Olekhnovich RO. Use of impedance biotesting to assess the actions of pharmaceutical compounds on the growth of microorganisms. Pharmaceutical Chemistry Journal. 2016;50:481–485. https://doi.org/10.1007/s11094-016-1473-3

15. Duan Y, Wang L, Gao Z, Wang H, Zhang H, Li H. An aptamer-based effective method for highly sensitive detection of chloramphenicol residues in animal-sourced food using real-time fluorescent quantitative PCR. Talanta. 2017;165:671–676. https://doi.org/10.1016/j.talanta.2016.12.090

16. Sibirtsev VS. Biological test methods based on fluorometric genome analysis. Journal of Optical Technology. 2017; 84(11):787–791. http://doi.org/10.1364/JOT.84.000787

17. Xie Y, Hu Q, Zhao M, Cheng Y, Guo Y, Qian H, *et al.* Simultaneous determination of erythromycin, tetracycline, and chloramphenicol residue in raw milk by molecularly imprinted polymer mixed with solid-phase extraction. Food Analytical Methods. 2018;11:374–381. https://doi.org/10.1007/s12161-017-1008-x

18. Kokina MS, Frioui M, Shamtsyan MM, Sibirtsev VS, Krasnikova LV, Konusova VG, *et al.* Influence of pleurotus ostreatus *β*-glucans on the growth and activity of certain lactic acid bacteria. Scientific Study and Research: Chemistry and Chemical Engineering, Biotechnology, Food Industry. 2018;19(4):465–471.

19. Yurova EA. Controlling dairy quality and safety. Milk processing. 2019;234(4):6–9. (In Russ.). [Юрова Е. А. Особенность контроля молочной продукции по показателям качества и безопасности // Переработка молока. 2019. Т. 234. № 4. С. 6–9.]. https://www.elibrary.ru/KLXMWE

20. Sibirtsev VS, Uspenskaya MV, Garabadgiu AV, Shvets VI. An integrated method of instrumental microbiotesting of environmental safety of various products, wastes, and territories. Doklady Biological Sciences. 2019;485:59–61. https://doi.org/10.1134/S001249661902011X

21. Sibirtsev VS, Garabadgiu AV, Shvets VI. New method of integrated photofluorescence microbiotesting. Doklady Biological Sciences. 2019;489:196–199. https://doi.org/10.1134/S0012496619060103

22. Chiesa LM, DeCastelli L, Nobile M, Martucci F, Mosconi G, Fontana M, *et al.* Analysis of antibiotic residues in raw bovine milk and their impact toward food safety and on milk starter cultures in cheese-making process. LWT. 2020;131:109783. https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.109783

23. Sibirtsev VS, Nechiporenko UYu. Method of electrochemical biotesting for comparative analysis of probiotic and antibiotic properties of various plant extracts. Fine Chemical Technologies. (In Russ.). 2020;15(6):34–43. https://doi.org/10.32362/2410-6593-2020-15-6-34-43; https://www.elibrary.ru/QLRRRX

24. Sibirtsev VS, Nechiporenko UYu, Kabanov VL, Kukin MYu. Electrochemical and optical microbiological testing: A comparative study on properties of essential oils. Food Processing: Techniques and Technology. 2020;50(4):650–659. (In Russ.). https://doi.org/10.21603/2074-9414-2020-4-650-659; https://www.elibrary.ru/GKIXML

25. Mou SA, Islam R, Shoeb M, Nahar N. Determination of chloramphenicol in meat samples using liquid chromatography-tandem mass spectrometry. Food Science and Nutrition. 2021;9(10):5670–5675. https://doi.org/10.1002/fsn3.2530

26. Wu S-W, Ko J-L, Liu B-H, Yu F-Y. A sensitive two-analyte immunochromatographic strip for simultaneously detecting aflatoxin M1 and chloramphenicol in milk. Toxins. 2020;12(10):637. https://doi.org/10.3390/toxins12100637

27. Zhao M, Li X, Zhang Y, Wang Y, Wang B, Zheng L, *et al.* Rapid quantitative detection of chloramphenicol in milk by microfluidic immunoassay. Food Chemistry. 2021;339:127857. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.127857

28. Vuran B, Ulusoy HI, Sarp G, Yilmaz E, Morgül U, Kabir A, *et al.* Determination of chloramphenicol and tetracycline residues in milk samples by means of nanofiber coated magnetic particles prior to high-performance liquid chromatography-diode array detection. Talanta. 2021;230:122307. https://doi.org/10.1016/j.talanta.2021.122307

29. Kurchenko VP, Simonenko ES, Sushynskaya NV, Halavach TN, Petrov AN, Simonenko SV. HPLC identification of mare's milk and its mix with cow's milk. Food Processing: Techniques and Technology. 2021;51(2):402–412. (In Russ.). https://doi.org/10.21603/2074-9414-2021-2-402-412; https://www.elibrary.ru/SMTJTY

30. Chaplygina OS, Prosekov AYu, 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; https://www.elibrary.ru/JOHIFZ

31. Anan'eva EP, Bogdanova OYu, Gurina SV, Sibirtsev VS. Using a conductometric method in microbiological control of natural excipients. Pharmaceutical Chemistry Journal. 2022;56:872–876. https://doi.org/10.1007/s11094-022-02721-z

32. Sibirtsev VS, Nechiporenko UYu, Kabanov VL, Kukin MYu, Radin MA. The procedure of electrochemical microbiological assay for comparative analysis of the properties of various plant extracts. Journal of Siberian Federal University. Biology. 2023;16(1):109–124. (In Russ.). [Методика электрохимического микробиологического тестирования в применении к сравнительному анализу свойств различных растительных экстрактов / В. С. Сибирцев [и др.] // Журнал Сибирского федерального университета. Серия: Биология. 2023. Т. 16. № 1. С. 109–124.]. https://www.elibrary.ru/ZZYKWQ

33. Muratshin AM, Shmakov VS, Tyrsin YuA. Determination of nature of ethanol by method of chromato-mass-spectral analysis. Beer and Beverages. 2005;(6):40–42. (In Russ.). [Муратшин А. М., Шмаков В. С., Тырсин Ю. А. Определение природы этанола методом хромато-масс-спектрометрии // Пиво и напитки. 2005. № 6. С. 40–42.]. https://www.elibrary.ru/NDULCC

34. Milman BL, Konopel'ko LA. Modern mass spectrometry: Proportions of developments. Mass-spektrometria. 2006; 3(4):271–276. [Мильман Б. Л., Конопелько Л. А. Современная масс-спектрометрия: пропорции развития // Масс-спектрометрия. 2006. Т. 3. № 4. С. 271–276.]. https://www.elibrary.ru/HVISDH

35. Dass C. Fundamentals of contemporary mass spectrometry. John Wiley & Sons; 2007. 610 p. https://doi.org/10.1002/0470118490

36. Mil'man BL, Zhurkovich IK. Mass spectrometric analysis of medical samples and aspects of clinical diagnostics. Journal of Analytical Chemistry. 2015;70:1179–1191. https://doi.org/10.1134/S1061934815100135

37. Kuz′min AG, Tkachenko EI, Oreshko LS, Titov YuA, Balabanov AS. Method of mass spectrometric express diagnostics based on the composition of exhaled air. Medical Academic Journal. 2016;16(4):106–107. (In Russ.). [Метод масс-спектрометрической экспресс-диагностики по составу выдыхаемого воздуха / А. Г. Кузьмин [и др.] // Медицинский академический журнал. 2016. Т. 16. № 4. С. 106–107.]. https://www.elibrary.ru/XWQLQB

38. Manoilov VV, Kuzmin AG, Titov UA. Extraction of information attributes from the mass spectrometric signals of air. Journal of Analytical Chemistry. 2016;71:1301–1308. https://doi.org/10.1134/S1061934816140094

39. Lu H, Zhang H, Chingin K, Xiong J, Fang X, Chen H. Ambient mass spectrometry for food science and industry. TrAC – Trends in Analytical Chemistry. 2018;107:99–115. https://doi.org/10.1016/j.trac.2018.07.017

40. Sibirtsev VS, Kuzmin AG, Titov YuA, Zanevskaya MYu, Zaitseva AYu. Possibilities of mass spectrometric quality control of dairy products on the example of industrial yoghurts with various additives. Scientific Instrumentation. 2023; 33(4):101–110. (In Russ.). [Возможности масс-спектрометрического контроля качества молочной продукции на примере промышленных йогуртов с различными добавками / В. С. Сибирцев [и др.] // Научное приборостроение. 2023. Т. 33. № 4. С. 101–110.]. https://www.elibrary.ru/UCSGXO

41. Manoilov VV, Kuzmin AG, Zarutskiy IV, Titov YuA, Samsonova NS. Methods of processing and investigation of the possibilities of classification of mass spectra of exhaled gases. Scientific Instrumentation. 2019;29(1):106–111. (In Russ.). [Методы обработки и исследование возможностей классификации масс-спектров выдыхаемых газов / В. В. Манойлов [и др.] // Научное приборостроение. 2019. Т. 29. № 1. С. 106–111.]. https://www.elibrary.ru/ZCTQYP

42. Manoilov VV, Novikov LV, Zarutskii IV, Kuz'min AG, Titov YuA. Methods for processing mass spectrometry signals from exhaled gases for medical diagnosis. Biomedical Engineering. 2020;53:355–359. https://doi.org/10.1007/s10527-020-09942-0

43. Kim Dzh-O, M′yuller ChU, Klekka UR, Oldenderfer MS, Blehshfild RK. Factor, discriminant, and cluster analyses. Moscow: Finansy i statistika; 1989. 215 p. (In Russ.). [Факторный, дискриминантный и кластерный анализ / Дж.-О. Ким [и др.]. М.: Финансы и статистика, 1989. 215 с.].

ISSN 2074-9414 (Print)
ISSN 2313-1748 (Online)

https://doi.org/10.21603/2074-9414-2024-2-2509
https://elibrary.ru/XDNYJK

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

Phytochemical and antioxidant composition of crude water extracts of *Chlorella vulgaris* and its effects on *Saccharomyces cerevisiae* growth in an ethanolic medium

Queency N. Okechukwu

Ural Federal University named after the First President of Russia B.N. Yeltsin, Yekaterinburg, Russia

Received: 13.11.2023
Revised: 21.12.2023
Accepted: 09.01.2024

Queency N. Okechukwu: queencyokechukwu@gmail.com,
https://orcid.org/0000-0002-8108-6787

© Q.N. Okechukwu, 2024

Abstract.
Chlorella vulgaris is rich in secondary metabolites that defend against environmental stress and aid in detoxification. In particular, bioactive compounds extracted from *C. vulgaris* may enhance the growth of microorganisms and detoxify them in an ethanolic medium. We aimed to effectively extract and characterize bioactive compounds found in *C. vulgaris* and further test them for their beneficial effects on the growth of *Saccharomyces cerevisiae* cultured in an ethanolic medium.
Bioactive compounds in *C. vulgaris* were extracted using ultrasound and water as solvents. The extracts were analyzed for total phenol and flavonoid contents as part of their phytochemical composition. Their DPPH radical activity and Hydrogen peroxide scavenging activity were examined to determine their antioxidant properties and protective potential for *S. cerevisiae* in an ethanolic medium. Further, the extracts were added at 0.1, 0.5, 1, 2, 3, and 4% w/v concentrations into *S. cerevisiae* culture induced with 1% v/v ethanol for 23 days. The yeast cells' density and viability were measured after 2, 5, 9, 13, 17, and 23 days.
The extracts of *C. vulgaris* were rich in phenols and flavonoids, which are important bioactive compounds. Higher concentrations of the extracts increased total phenols up to 47.67 GAE mg/L and total flavonoids up to 218.67 QE mg/L. The extracts' antioxidant composition showed high DPPH activity (70.12%) and H_2O_2 scavenging activity (4.97%). After 23 days, the samples treated with *C. vulgaris* extracts maintained a high viability of the yeast cells. In particular, the samples with 2, 4, 0.1, and 1% of the extract had a cell viability of 95.75, 94.04, 89.15, and 74%, respectively. The positive control (1% ethanol alone) and negative control (yeast alone) had 47.71 and 21.01% viability, respectively. This drastic reduction in viability was due to lysis of the yeast cells caused by ethanol.
Ultrasound extraction with water as a solvent produced abundant beneficial secondary metabolites from *C. vulgaris*. The addition of *C. vulgaris* extract increased the viability and cell density of *S. cerevisiae* after 27 days, thereby protecting the yeast cells from the toxic effects of ethanol.

Keywords. *Chlorella vulgaris*, phytochemicals, antioxidants, microalgae, yeast, ultrasound-assisted extraction, *Saccharomyces cerevisiae*, viability, water extracts

For citation: Okechukwu QN. Phytochemical and antioxidant composition of crude water extracts of *Chlorella vulgaris* and its effects on *Saccharomyces cerevisiae* growth in an ethanolic medium. Food Processing: Techniques and Technology. 2024;54(2):298–309. https://doi.org/10.21603/2074-9414-2024-2-2509

https://doi.org/10.21603/2074-9414-2024-2-2509
https://elibrary.ru/XDNYJK

Оригинальная статья
https://fptt.ru

Влияние фитохимического и антиоксидантного составов необработанных водных экстрактов *Chlorella vulgaris* на рост *Saccharomyces cerevisiae* в спиртовой среде

К. Н. Окечукву

Уральский федеральный университет имени первого Президента России Б. Н. Ельцина, Екатеринбург, Россия

Поступила в редакцию: 13.11.2023
Принята после рецензирования: 21.12.2023
Принята к публикации: 09.01.2024

К. Н. Окечукву: queencyokechukwu@gmail.com, https://orcid.org/0000-0002-8108-6787

© К. Н. Окечукву, 2024

Аннотация.
Хлорелла обыкновенная имеет высокое содержание вторичных метаболитов, которые защищают от воздействия внешней среды и способствуют детоксикации. Биоактивные соединения, экстрагированные из *Chlorella vulgaris*, могут усиливать рост микроорганизмов и детоксицировать их в спиртовой среде. В данном исследовании описали биологически активные соединения, обнаруженные в *C. vulgaris*, и их влияние на рост *Saccharomyces cerevisiae*, культивируемых в этанольной среде.
Биоактивные соединения извлекались из *C. vulgaris* при помощи ультразвука; в качестве растворителя применялась вода. В экстрактах анализировали общее содержание фенолов и флавоноидов. Антиоксидантные свойства и защитный потенциал для *S. cerevisiae* в спиртовой среде изучали через радикальную активность ДФПГ и активность по удалению перекиси водорода. В течение 23 дней экстракты в концентрациях 0,1, 0,5, 1, 2, 3 и 4 % мас./об. добавляли в культуру *S. cerevisiae*, индуцированную 1 % об./об. этанола. Плотность и жизнеспособность дрожжевых клеток измеряли через 2, 5, 9, 13, 17 и 23 дня.
Экстракты хлореллы обыкновенной богаты фенолами и флавоноидами, которые являются важными биологически активными соединениями. Высокие концентрации экстрактов увеличивали общее количество фенолов до 47,67 GAE мг/л, а общее количество флавоноидов до 218,67 QE мг/л. Антиоксидантный состав экстрактов показал высокую активность ДФПГ (70,12 %) и активность по связыванию H_2O_2 (4,97 %). Через 23 дня образцы, обработанные экстрактами *C. vulgaris*, сохраняли высокую жизнеспособность дрожжевых клеток. Образцы, содержащие 2, 4, 0,1 и 1 % экстракта, продемонстрировали жизнеспособность клеток в объеме 95,75, 94,04, 89,15 и 74 % соответственно. Положительный контроль (1 % этанол) и отрицательный контроль (дрожжи) имели жизнеспособность 47,71 и 21,01 % соответственно. Такое снижение жизнеспособности произошло из-за лизиса дрожжевых клеток, вызванного этанолом.
Ультразвуковая экстракция с водой в качестве растворителя привела к образованию обильных полезных вторичных метаболитов *C. vulgaris*. Добавление экстракта *C. vulgaris* на протяжении 27 дней повысило жизнеспособность и плотность клеток *S. cerevisiae*, что защищало дрожжевые клетки от токсического воздействия этанола.

Ключевые слова. *Chlorella vulgaris*, фитохимические вещества, антиоксиданты, микроводоросли, дрожжи, ультразвуковая экстракция, *Saccharomyces cerevisiae*, жизнеспособность, водные экстракты

Для цитирования: Окечукву К. Н. Влияние фитохимического и антиоксидантного составов необработанных водных экстрактов *Chlorella vulgaris* на рост *Saccharomyces cerevisiae* в спиртовой среде // Техника и технология пищевых производств. 2024. Т. 54. № 2. С. 298–309. (На англ.). https://doi.org/10.21603/2074-9414-2024-2-2509

Introduction

Microalgae, or microscopic algae, are unicellular photosynthetic organisms that can grow in diverse environmental conditions, including deserts, polar regions, as well as marine and freshwater reserves [1]. They contain considerable amounts of carbohydrates, lipids, proteins, and secondary metabolites, including phytochemicals, pigments, antioxidants, and detoxicants [2]. These components serve as defense mechanisms during growth [3]. For example, antioxidant molecules regulate free radical formation in organisms and prevent oxidative damage, while detoxicants remove harmful substances from heavy metals and prevent oxidative stress [4].

Chlorella vulgaris, a unicellular green microalga of the genus *C. vulgaris*, is one of the most popular photosynthetic protists distributed in diverse terrestrial, freshwater, and marine habitats [5]. This microscopic (2–15 µm in diameter) non-mobile green alga is a solitary and high-performing producer when compared to both aquatic and terrestrial systems. It has gained widespread

use as a food supplement in various countries of the world [6, 7]. *C. vulgaris* contains various nutrients, including carotenes, protein, fiber, vitamins, minerals, nucleic acids, polysaccharides, chlorophyll, dietary antioxidants, chlorella growth factor, and bioactive peptide [8]. Since it can tolerate several heavy metals and metalloids, this microalga has been extensively used in Japan for detoxification purposes. Considered a most effective detoxifying agent, *C. vulgaris* is capable of binding and removing alcohol from the liver. Also, it can remove heavy metals (cadmium and mercury), certain pesticides, herbicides, and polychlorobiphenyls from the tissues of the human body [9, 10]. Its detoxification capability is attributed to its unique cell composition and the presence of metal-chelating compounds such as phytochelatin and metallothionein [9, 10]. In addition, the compounds extracted from *C. vulgaris* have functional benefits in food biotechnology (such as improving beer functional properties) and in microbial biotechnology (such as enhancing microbial growth and fermentation).

Fermentation is an important process in food production. In alcoholic fermentation, yeast transforms fermentable sugars in wort into ethanol, volatile organic compounds, and other metabolites. *Saccharomyces cerevisiae* is a yeast that is traditionally used to produce beer, wine and other higher alcohols, as well as bioethanol. However, ethanol buildup caused by the conversion of fermentable sugars harms the performance/efficiency of the yeast cells, as well as their viability and vitality [11]. Ethanol is known to inhibit the growth of microorganisms by dissolving their membrane lipid bilayer and denaturing their proteins [12]. There has been extensive research to enhance the fermentative properties of the yeast and protect its cells from the toxic effects of ethanol buildup. Studies have shown that ethanol damages the mitochondrial DNA in the yeast cells and inactivates some of the enzymes such as hexokinase and dehydrogenase [13]. *S. cerevisiae* generally cannot tolerate an environment with more than 10–11% ethanol. Higher concentrations of ethanol during fermentation reduce the yeast's effectiveness in fermenting sugars and limit fermentation productivity and ethanol yield [14]. However, certain types of yeasts can withstand higher concentrations of ethanol, which is evident in some specialist brews. Cost-effective ethanol fermentation depends on, among other factors, rapid and high-yielding conversion of carbohydrates to ethanol. This, in its turn, entirely depends on the survival and performance of yeast cells under industrial conditions [15]. Monitoring yeast survival and performance, as well as yeast cell viability and vitality (the physiological state of viable cells), is a critical factor in alcoholic fermentation. Effective brewery fermentation requires appropriate conditions for maintaining yeast vitality and producing high-quality beer [11]. Understanding the impact of ethanol toxicity on *S. cerevisiae* and its cells' response to ethanol stress is a key factor in optimizing fermentation productivity and maximizing ethanol production without affecting the yeast fermentation activity [11]. This can be achieved through developing approaches to improve the ethanol tolerance of the yeast cells during fermentation, including the use of secondary metabolites such as antioxidants and detoxicants from microalgae.

Many studies have investigated the beneficial effects of lactic acid bacteria and other prebiotics on the growth of microorganisms and preventing oxidative damage. However, fewer studies have looked into the detoxication capabilities of *C. vulgaris*. In our previous study, *C. vulgaris* biomass enhanced the growth and survival of *S. cerevisiae* cultured in an ethanolic medium for 5 days [13]. Further, chlorella extracts improved the viability of the yeast cultured in a liquid ethanol-free medium [6]. We are yet to understand what effects the extracts from chlorella would have on a long-term culture of yeasts in an ethanolic medium. Also, these compounds are produced as secondary metabolites in response to environmental factors and may not be easily accessible for the rigid cell wall. For this reason, it is important to understand not only how selective an extraction process is but also how it may affect the composition of bioactive compounds. Therefore, we aimed to identify an effective and optimal method for extracting phytochemicals from *C. vulgaris*, characterize them for their antioxidant properties, and test their protective effects on yeasts cultured in ethanolic media.

Study objects and methods

Materials and chemicals. Food-grade *Chlorella vulgaris* biomass was obtained from Zhengzhou Sigma Chemical Co., Ltd. (Zhengzhou, China). Wyeast 1272 American Ale II yeast (Wyeast Laboratories, OR, USA) was provided by Beersfan microbrewery (Yekaterinburg, Russia). Sabouraud growth medium was purchased from the State Research Center for Applied Microbiology (Obolensk, Russia). Ethanol and methanol were purchased from Rosbio (St. Petersburg, Russia). Anhydrous gallic acid (anhydrous), Folin-Ciocalteu solution, and 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) were obtained from Sigma-Aldrich (Darmstadt, Germany). Sodium carbonate (Na_2CO_3), sodium hydroxide (NaOH), aluminum nitrite ($Al(NO_3)_3$), and sodium nitrite ($NaNO_2$) were sourced from Bashkir Soda Company (Ufa, Bashkortostan, Russia). Quercetin was purchased from Conscientia Industrial Co., Ltd. (Zhejiang, China). All the chemicals used were of analytical grade.

Water extraction of *C. vulgaris*. Bioactive compounds of *C. vulgaris* were extracted using an ultrasonic extractor with distilled water as a solvent, as previously described [6]. Briefly, the *C. vulgaris* biomass (1 g) was measured in a beaker containing water (10 mL). The beaker was placed on an ultrasonic-assisted extractor (Elma, Schmidbauer GmbH, Germany) and sonicated at 30°C, 37 kHz, 60% power for 30 min. After sonication, all the samples were mixed and centrifuged with an

IEC-CL Multispeed centrifuge (Rotoflox 32A, Hettich, Tuttlingen, Germany) at 6000 rpm for 10 min, and the supernatant was transferred into a clean sterilized beaker. The solvent (water) was evaporated using an IKA Rv8 rotary evaporator (IKA Werke GmbH and Co. KG, Staufen, Germany) until a viscous *C. vulgaris* water extract was obtained and stored at −18°C until further use. The extraction yield, %, was calculated as follows:

$$\text{Extraction yield} = \left[\frac{\text{Weight of extract after evaporation}}{\text{Weight of the dry sample}}\right] \times 100 \text{ (l)}$$

Phytochemical analysis. ***Determination of total phenolic content.*** The total phenolic content of the *C. vulgaris* water extracts (CWE) was determined according to a previously described method with slight modifications [16]. Briefly, diluted CWE samples (0.25 mL) without pretreatment, CWE, and standard gallic acid (0, 50, 100, 150, 250, and 500 mg/L) were pipetted into assay tubes. Folin-Ciocalteu solution (0.5 mL) and distilled water (5.5 mL) were mixed and homogenized. The mixture was allowed to incubate for 5 min, and 1 mL of Na_2CO_3 (20%) solution was added. The assay tubes were further incubated at 20°C for 2 h. Absorbance was measured at 765 nm against a blank (distilled water) using a Shimadzu UV-1800 spectrophotometer (Kyoto, Japan). The total phenolic content was calculated from the standard curve of gallic acid ($y = 0.0038x + 0.0487$, $R^2 = 0.9982$), and the results were expressed as milligrams of gallic acid equivalents per liter of CWE (GAE mg/L).

Determination of total flavonoid content. The total flavonoid content of the *C. vulgaris* water extracts was determined based on a modified nano2–Al $(NO_3)_3$–NaOH colorimetric procedure, as previously described [17]. Briefly, 1 mL of the extract was mixed with 4 mL of 30% ethanol and 0.3 mL of nano2 (5%, w/v). After 5 min, the mixture was reacted with 0.3 mL of $Al(NO_3)_3$ (10%, w/v) for 6 min. Then, 4 mL of 1 M NaOH was added, and the mixture was adjusted to 10 mL with 0.4 mL of 30% ethanol. After incubation at room temperature for 10 min, absorbance was measured at 510 nm. The $Al(NO_3)_3$ and NaOH solutions were substituted with the same amount of 30% ethanol in the blank. The total flavonoid content of the samples was expressed as quercetin equivalents, and the calibration curve ranged from 0 to 500 µg/mL.

Antioxidant activity. ***In vitro DPPH antioxidant activity.*** *In vitro* antioxidant activity was determined by the 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) method, as previously described [18, 19]. Two milliliters of the *C. vulgaris* water extract (CWE) (1:10 dilution) was mixed with 0.1 mm DPPH methanol solution (2 mL). Similarly, control samples were prepared by mixing ethanol (2 mL) and 0.1 mm DPPH methanol solution (2 mL). The mixture was incubated in the dark for 30 min at room temperature. Absorbance was measured at 515 nm using a Shimadzu UV-1800 spectrophotometer (Kyoto, Japan). DPPH antioxidant activity was calculated as follows:

$$\% \text{ Inhibition} = \frac{A_{control} - A_{sample}}{A_{control}} \times 100 \qquad (2)$$

where $A_{control}$ is the absorbance of control; A_{sample} is the absorbance of sample.

Hydrogen peroxide (H_2O_2) scavenging activity. The hydrogen peroxide scavenging capacity of the *C. vulgaris* water extracts (CWE) was assayed according to the method described by, with slight modifications [20]. Briefly, an H_2O_2 solution (43 mm) was prepared in a 1 M phosphate buffer (pH 7.4). An aliquot (3 mL) of the diluted CWE samples (50 times) was transferred into separate test tubes, and H_2O_2 solution (1 mL) was added. The reaction mixture was incubated for 10 min at room temperature. After incubation, absorbance was measured using a Shimadzu UV-1800 spectrophotometer (Kyoto, Japan) at 230 nm against a blank solution (phosphate buffer only). The experiment was performed in triplicate. The percentage of hydrogen peroxide scavenging of the CWE samples was estimated as follows:

$$\% \text{ } H_2O_2 \text{ scavenging activity} = \left[\frac{A_{control} \text{ (without CWE)} - A_{sample}}{A_{control}}\right] \times 100 \qquad (3)$$

where $A_{control}$ is the absorbance of control; A_{sample} is the absorbance of sample; $A_{control}$ (without CWE) is the absorbance of control (without CWE).

Identification of individual phenols. The samples were analyzed using high-performance liquid chromatography on an Agilent 1290 Infinity II liquid chromatograph coupled to an Agilent 6545 Q-TOF LC/MS quadrupole time-of-flight mass spectrometer. Chromatographic separation was performed on a Zorbax Eclipse Plus C18 RRHD column with dimensions of 2.1 mm × 50 mm × 1.8 µm (959757-902, Agilent Technologies), additionally protected by a pre-column with dimensions of 2.1 mm × 5 mm × 1.8 µm. The mobile phase consisted of a mixture of a 0.1% (v/v) solution of formic acid in water (solvent A) and a 0.1% solution of formic acid in acetonitrile (solvent B). Chromatographic separation was performed in a gradient mode with a linear change in the content of eluent B in the mobile phase from 5 to 100 vol.% for 15 min. Then, the final content of eluent B was maintained for 2 min. The flow rate was 0.4 mL/min. The temperature of the column thermostat was set at 35°C. The prepared solution was injected in a volume of 1 µL. A quadrupole time-of-flight detector was used with an electrospray ionization source in the negativeion detection mode. The scan range (m/z) was 100–1700 in the MS mode and 30–500 in the MS/MS mode. Spectra from the MS/MS experiments were obtained due to thecollision-induced dissociation (DIS) with nitrogen molecules at a collision energy of 20 eV. The device was automatically adjusted using standard

calibration solutions recommended by the device manufacturer. Preliminary identification of the compounds was carried out by determining their elemental compositions (gross formulas) and comparing the DIS spectra obtained during the MS/MS experiments with literature data and spectral libraries.

Protective effect of *C. vulgaris* extracts on the growth of *Saccharomyces cerevisiae. S. cerevisiae* culture and growth. Precultured *S. cerevisiae* cells were inoculated (1×10^6 cells/mL) in Sabouraud medium (100 mL) supplemented with 0.1, 0.5, 1, 2, 3, and 4% w/v *C. vulgaris* extracts (coded YEC 1-6 respectively) in 250 mL Erlenmeyer flasks, and ethanol was added to the cultures at a final volume of 5% v/v. Similarly, the ethanol (5% v/v)-supplemented cultures served as a positive control, the cultures in the media alone, without treatment, served as a negative control, and the cultures treated with only 0.1% w/v *C. vulgaris* extract served as a normal control. All the samples were transferred into a rotary shaker at 160 rpm and incubated at 26°C for 23 days. Aliquots from the samples were collected from the media on days 2, 5, 9, 13, 17, and 23 to check for yeast viability.

***S. cerevisiae* growth and viability quantification.** *S. cerevisiae* cell numbers were determined using a Nikon labophot-2 light microscope (×400 magnification) with methylene blue staining. The numbers of viable yeast cells were calculated by pipetting 1 mL of the yeast suspension into 9 mL of water. The diluted suspension (1 mL) was mixed with methylene blue stain (1:1 ratio) and allowed to rest for 1 min in a 2 mL microcentrifuge tube. The sample (10 μL) was then transferred to a hemocytometer slide (Goryaev chamber) using a pipette and examined under a microscope. The yeast count (million cells/mL viable cells) was determined by counting five small squares (each consisting of 16 smaller cells) from a total of 25 squares. The cell density, cells/mL, and yeast viability, %, were calculated using the following Eqs. (4)–(5):

$$\text{Cell density } M = \frac{a \times 10^3 \times n}{h \times S} \quad (4)$$

where M is the number of cells in 1 mL of suspension; a is the average number of cells in a square grid; 10^3 is the conversion factor mm^3 to mL; n is the dilution factor of the suspension used; h is the depth of the chamber, mm; and S is the area of the grid square, mm^2.

$$\text{Yeast viability} = \frac{\left(C_{\text{cells}} - C_{\text{dead cells}}\right)}{C_{\text{cells}}} \times 100 \quad (5)$$

where C_{cells} is the total counted cells; $C_{dead\ cells}$ is the s total counted dead cells.

Statistical analysis. The data generated from triplicate measurements were subjected to analysis of variance (ANOVA) and significant ($p \leq 0.05$) means were separated with Tukey's test using Minitab 21 (Minitab Ltd., Coventry, UK). Microsoft Excel was used in plotting the line graph to show the progression of the cells over time. The results were presented as mean ± standard deviation (SD).

Results and discussion

Extraction yield. To obtain functional compounds from *Chlorella vulgaris*, ultrasound-assisted extraction was employed with water used as a solvent to maximize the extract content. Ultrasound-assisted extraction uses ultrasonic waves to extract compounds from the compound matrix through the cavitation phenomenon, which allows the solute to diffuse into the solvent. In our study, 0.67 g of nutraceutical compounds was extracted from *C. vulgaris*, with a yield of 67%. Kitada *et al.* performed hydrothermal extraction in a semi-batch and batch-type extractor (120–200°C, 2–10 mPa, 30–300 min) and conventional hot-water extraction (95–100°C, 25 min) [21]. They observed that the extraction yield increased significantly with increasing temperature and extraction time. Furthermore, hot-water extraction had the lowest yield at both temperatures and a lower extraction time of 30 min [21]. However, Plaza *et al.*, who performed pressurized liquid extraction, reported much higher extraction yields than those obtained by ultrasound-assisted extraction, when water and higher temperatures were employed [5]. According to both results, microalgae require medium-high polar solvents to extract bioactive compounds, as *C. vulgaris* is mostly composed of medium-to-high-polarity compounds [5]. Higher temperature resulted in an increase in the ion product of water, which enhanced the ability of water to penetrate *C. vulgaris* and extract its extractable components. However, high temperature can also cause extractable components to decompose into carbon, which reduces the yield [21].

Bioactive compounds from *C. vulgaris* biomass can be potentially used as functional food supplements or to improve microbial growth [7, 22, 23]. *C. vulgaris* has rigid cell walls which are difficult to break down. As a result, extracting intracellular components becomes a challenge and a costly operation [5]. Therefore, for efficient extraction, cell lysis must be achieved before other fractionation procedures. Some of the best methods to lyse the cell walls include mechanical agitation using ultrasonic sounds, high-pressure homogenizers, bead mills, etc. [24]. Other methods include thermal, enzymatic, chemical, and osmotic shock treatments. Nonetheless, the quality of the target molecules is likely to be different compared to the cell disruption method [25].

Phytochemical composition and antioxidant properties. The phytochemical composition and antioxidant properties of *C. vulgaris* extract are shown in Tables 1 and 2, respectively. Based on our previous studies, we established concentrations of *C. vulgaris* biomass which had beneficial effects on yeast growth and beer [6, 13, 26]. This study showed that higher concentrations caused an increase in both phytochemical composition and antioxidant activity.

As can be seen in Table 1, the CWE3 sample (5 g/L *C. vulgaris* extract) had the highest total phenol content and total flavonoid content (47.67 mg GAE/L and 218.67 mg QE/L, respectively). These contents were

Table 1. Phytochemical properties of *Chlorella vulgaris* extracts

Таблица 1. Фитохимические свойства экстрактов хлореллы обыкновенной (*Chlorella vulgaris*)

Samples	Total phenol content, mg GAE/L	Total flavonoid content, mg QE/L
CWE1	4.60 ± 0.06^{c}	30.81 ± 17.85^{c}
CWE2	11.66 ± 0.74^{b}	272.10 ± 27.95^{b}
CWE3	47.67 ± 1.05^{a}	218.67 ± 17.51^{a}

The results represent the mean ± SD of triplicate measurements. The means with different letters in each column denote significant differences ($p < 0.05$) using Tukey's test, where CWE is the *C. vulgaris* extract wort (CWE1 = 0.5 g/L *C. vulgaris* extract, CWE2 = 1 g/L *C. vulgaris* extract, CWE3 = 5g/L *C. vulgaris* extract).

Результаты представляют собой среднее значение ± SD трехкратных измерений. Средние значения в одном столбце с разными буквенными обозначениями маркируют достоверные различия ($p < 0,05$) с использованием критерия Тьюки, где CWE – экстракт сусла *C. vulgaris* (CWE1 = 0,5 г/л экстракта *C. vulgaris*, CWE2 = 1 г/л экстракта *C. vulgaris*, CWE3 = 5 г/л экстракта *C. vulgaris*).

Table 2. Antioxidant activities of *Chlorella vulgaris* extracts

Таблица 2. Антиоксидантная активность экстрактов хлореллы обыкновенной (*Chlorella vulgaris*)

Samples	DPPH Antioxidant activity, %	H_2O_2 Scavenging activity, %
CWE1	47.30 ± 0.64^{c}	2.24 ± 0.05^{c}
CWE2	50.45 ± 0.64^{c}	4.25 ± 0.11^{b}
CWE3	70.12 ± 1.49^{b}	4.97 ± 0.05^{a}
ASA1	96.40 ± 0.00^{a}	3.72 ± 0.21^{b}
ASA2	95.35 ± 1.06^{a}	5.01 ± 0.00^{a}
ASA3	96.40 ± 0.00^{a}	5.09 ± 0.11^{a}

The results represent the mean ± SD of triplicate measurements. The means with different letters in each column denote significant differences ($p < 0.05$) using the Tukey's test, where CWE is the *C. vulgaris* extract wort (CWE1 = 0.5 g/L *C. vulgaris* extract, CWE2 = 1 g/L *C. vulgaris* extract, CWE3 = 5 g/L *C. vulgaris* extract, ASA1 = 0.5 g/L ascorbic acid, ASA2 = 1 g/L ascorbic acid, ASA3 = 5 g/L ascorbic acid).

Результаты представляют собой среднее значение ± SD трехкратных измерений. Средние значения в одном столбце с разными буквенными обозначениями маркируют достоверные различия ($p < 0,05$) с использованием критерия Тьюки, где CWE – экстракт сусла *C. vulgaris* (CWE1 = 0,5 г/л экстракта *C. vulgaris*, CWE2 = 1 г/л экстракта *C. vulgaris*, CWE3 = 5 г/л экстракта *C. vulgaris*, ASA1 = 0,5 г/л аскорбиновой кислоты, ASA2 = 1 г/л аскорбиновой кислоты, ASA3 = 5 г/л аскорбиновой кислоты).

both significantly different ($p \leq 0.05$) from those in the samples CWE1 and CWE 2 (0.5 and 1 g/L *C. vulgaris* extracts, respectively).

According to Table 2, the antioxidant properties of the extracts increased with higher concentrations. Ascorbic acid, which is a natural antioxidant, was used as a reference standard. The ascorbic acid standard showed significantly higher DPPH scavenging activity in the samples ASA1, ASA2, and ASA3 (0.5, 1, and 5 g/L ascorbic acid, respectively) at 96.40, 95.35, and 96.40%, respectively. All of these percentages were statistically significant ($p \leq 0.05$) compared to those for the *C. vulgaris* extracts (47.30, 50.45, and 70.12% for CWE1, CWE2, and CWE3, respectively). Likewise, higher concentrations of the ascorbic acid standard showed higher H_2O_2 scavenging activity (5.01 and 5.09% for ASA2 and ASA3, respectively), but the difference was not statistically significant ($p \geq 0.05$) from CWE3 (4.97%). CWE1 had the lowest H_2O_2 scavenging activity (2.24%) and was significantly different ($p \leq 0.05$) from the other samples.

Our study showed that *C. vulgaris* extracts contain considerable amounts of phytochemicals and antioxidant compounds due to the presence of hydrophilic molecules in the water extract. Free radicals can be neutralized or stabilized by antioxidants before they damage biological cells. Antioxidants can either create stable compounds by combining with other radicals or be absorbed by other antioxidants if they are unable to initiate a chain reaction [27]. Our findings are in line with the work of Dantas *et al.*, who recorded higher total phenol content and total flavonoid content values (3.34 and 1.48 mg/mL, respectively) of the water extracts from *C. vulgaris* when compared to other solvents [27]. Vieira *et al.* recorded a total phenol content of 114.32 mg/100 g dried biomass of *C. vulgaris* extracted with a solvent mixture of methanol, water, acetic acid, and ascorbic acid [28]. Likewise, Dantas *et al.* found that *C. vulgaris* water extracts had 68.5% DPPH inhibition when compared to other solvents, which is consistent with our results [27].

Several techniques have been recently created to assess the overall antioxidant activity of bioactive compounds. Measuring each antioxidant independently is comparatively challenging since crude extracts contain a variety of antioxidant components [29, 30]. Due to their ability to prevent product oxidation, free radical scavenging with DPPH is frequently employed as a measure of antioxidant activity [30, 31]. Hydrogen peroxide (H_2O_2) in excess amounts can be harmful to cells [32]. This damage increases as free radicals are combined with Fe^{+2}, generating hydroxyl radicals through the Fenton reaction, which involves lipid peroxidase [33]. The scavenging of hydrogen peroxide may be associated mostly with the phenolic compounds which can contribute electrons to hydrogen peroxide, thus neutralizing it into water.

Phenolic composition. High-performance liquid chromatography-mass spectrometry (HPLC/MS) was used to detect and identify bioactive compounds in the *C. vulgaris* extracts (Fig. 1). Exact mass measurements of pseudomolecular ions in the analytes performed with a time-of-flight mass spectrometer enabled us to determine molecular formulas. Of 36 compounds identified in the extracts with HPLC/MS, only 6 could be characterized using the mass spectra database (Table 3). They include hydroxycinnamic acids, flavan-3-ol, flavanol, and benzoic acids.

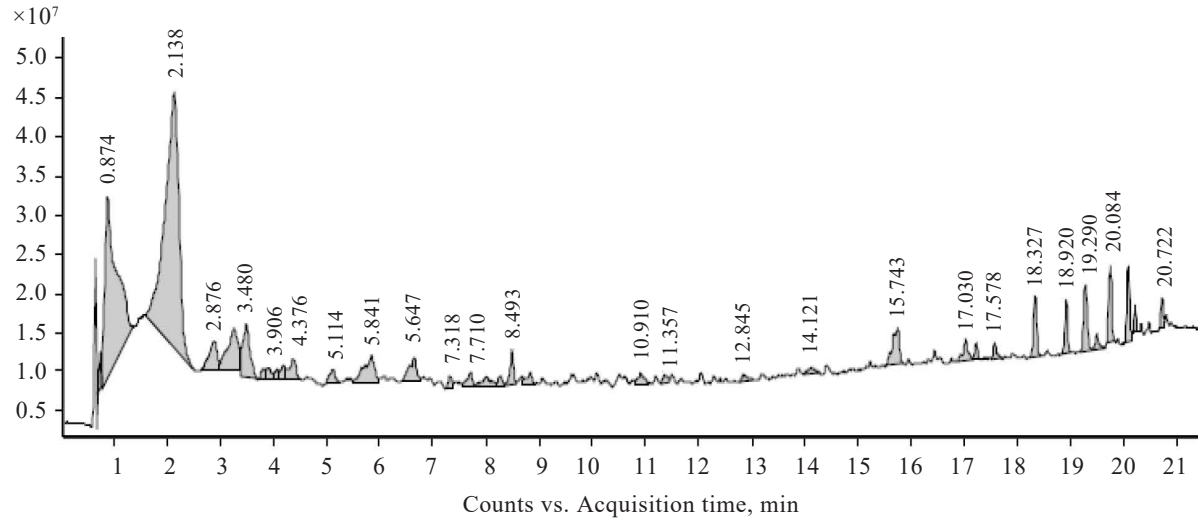


Figure 1. HPLC/MS chromatogram for *Chlorella vulgaris* extracts

Рисунок 1. Хроматограмма ВЭЖХ/МС экстрактов *Chlorella vulgaris*

Table 3. Phenolic compounds identified in *Chlorella vulgaris* extracts

Таблица 3. Фенольные соединения в экстрактах *Chlorella vulgaris*

Mass, m/z	Name	Formula
182.0576	4-Hydroxyphenyllactic acid	$C_9H_{10}O_4$
290.0785	Epicatechin	$C_{15}H_{14}O_6$
164.0472	Coumaric acid	$C_9H_8O_3$
154.0264	2,6-Dihydroxybenzoic acid	$C_7H_6O_4$
194.0577	(E)-Ferulic acid	$C_{10}H_{10}O_4$
302.0424	Quercetin	$C_{15}H_{10}O_7$

Some of our results are consistent with those in several other studies that characterized phenols in microalgae. For example, Bhuvana *et al.* identified different phenolic acids and flavonoids using HPLC in methanolic extracts of *C. vulgaris*, including chlorogenic and caffeic acids, hydroxycinamic acid derivative, quercetin pentosidehexoside, quercetin-7-o-hexoside3-o-hexoside, and luteolin 7-Orutinoside [34]. Goiris reported the presence of hydroxycinnamic (ferulic and p-coumaric) acids, while another study identified caffeic, ferulic, and p-coumaric acids in *C. vulgaris* [35, 36]. Similarly, Vieira *et al.* identified mostly flavan-3-ols in *C. vulgaris* using ultra-performance liquid chromatography [28]. *C. vulgaris* contains a lot of phytochemicals with antioxidant and antimicrobial properties. Their types and amounts may depend on the species and the solvent/extraction technique employed, as well as on the growth parameters and environmental factors [28].

Phenols are a big family of phytochemicals with a wide range of chemical variations. Studies indicate that their benefits to human health and the food industry are mainly due to their antioxidant activity, as well as some biological features. Liu and Chen found that astaxanthin, a carotenoid isolated from *Chlorella zofingiensis*, has potential to protect organisms against a wide range of diseases, with promising applications in healthcare [37]. For example, ProTec Ingredia created a commercial product based on *C. vulgaris* extract which stimulates the synthesis of collagen in the skin, regenerating tissues and slowing down aging [38].

Effects of *C. vulgaris* extracts on the viability of *S. cerevisiae* in an ethanolic medium. *Morphology of cultured S. cerevisiae.* To determine the effects of *C. vulgaris* extracts on *S. cerevisiae*, we analyzed the physical appearance (shape, size, and dispersion) of their cells under the microscope after 2 and 23 days of storage (Figs. 1 and 2, respectively). The *S. cerevisiae* cells were big and either clustered together or dispersed, except for the sample with 0.1% of the extract which was small and dispersed. However, we cannot explain the reason behind their size and dispersion. Investigating the cells' viability, we noticed that they had a rapid division rate in the samples with the *C. vulgaris* extract, as compared to the normal and negative control samples.

The growth and viability of S. cerevisiae cells. To quantify the effect of *C. vulgaris* extracts on the cell growth of *S. cerevisiae* in an ethanolic medium, we determined the viability and density of the *S. cerevisiae* cells (Fig. 3a and b, respectively). After 2 days of culturing, the viability of the negative (YA) and positive (YE) controls reduced to 93.36 and 61.11%, respectively. All the *C. vulgaris*-treated samples showed 100% cell viability, except for the YEC1 sample with 96.69% viability on the 2nd day of storage. The viability of the *S. cerevisiae* cells was still high in the treated samples after 23 days of storage. The YEC4 sample had the highest viability of 95.75%, followed by YEC6 and YEC1 (94.04 and 89.15%, respectively), and YEC3 with the lowest viability

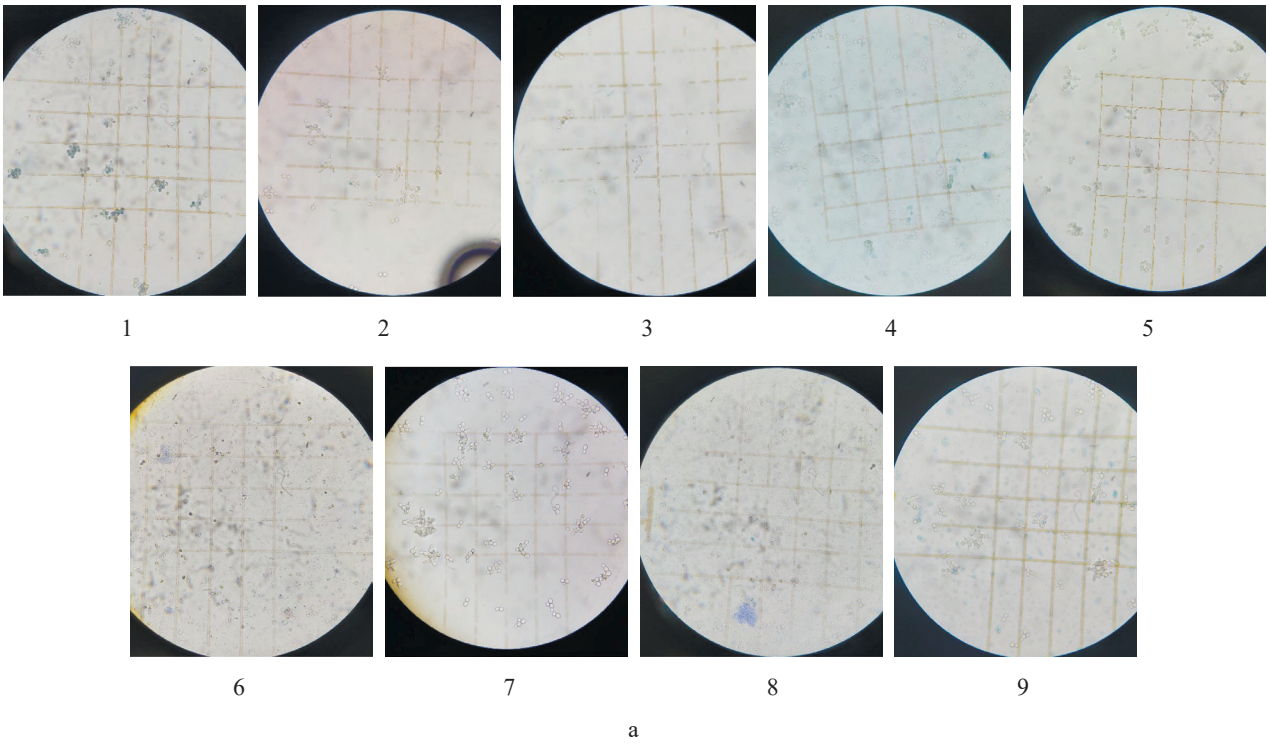


Figure 2. Morphology of yeasts under different extract conditions after (a) 2 days, (b) 23 days of storage, where 1: yeast alone; 2: yeast + 1% ethanol; 3: yeast + 0.1% *Chlorella vulgaris*, 4: yeast + 0.1% *Chlorella vulgaris* + 1% ethanol; 5: yeast + 0.5% *Chlorella vulgaris* + 1% ethanol; 6: yeast + 1% *Chlorella vulgaris* + 1% ethanol; 7: yeast + 2% *Chlorella vulgaris* + 1% ethanol; 8: yeast + 3% *Chlorella vulgaris* + 1% ethanol; 9: yeast + 4% *Chlorella vulgaris* + 1% ethanol

Рисунок 2. Морфология дрожжей в различных условиях экстрагирования после (a) 2 суток, (b) 23 суток хранения, где 1 – только дрожжи; 2 – дрожжи + 1 % этанола; 3 – дрожжи + 0,1 % хлореллы обыкновенной; 4 – дрожжи + 0,1 % хлореллы обыкновенной + 1 % этанола; 5 – дрожжи + 0,5 % хлореллы обыкновенной + 1 % этанола; 6 – дрожжи + 1 % хлореллы обыкновенной + 1 % этанола; 7 – дрожжи + 2 % хлореллы обыкновенной + 1 % этанола; 8 – дрожжи + 3 % хлореллы обыкновенной + 1 % этанола; 9 – дрожжи + 4 % хлореллы обыкновенной + 1 % этанола

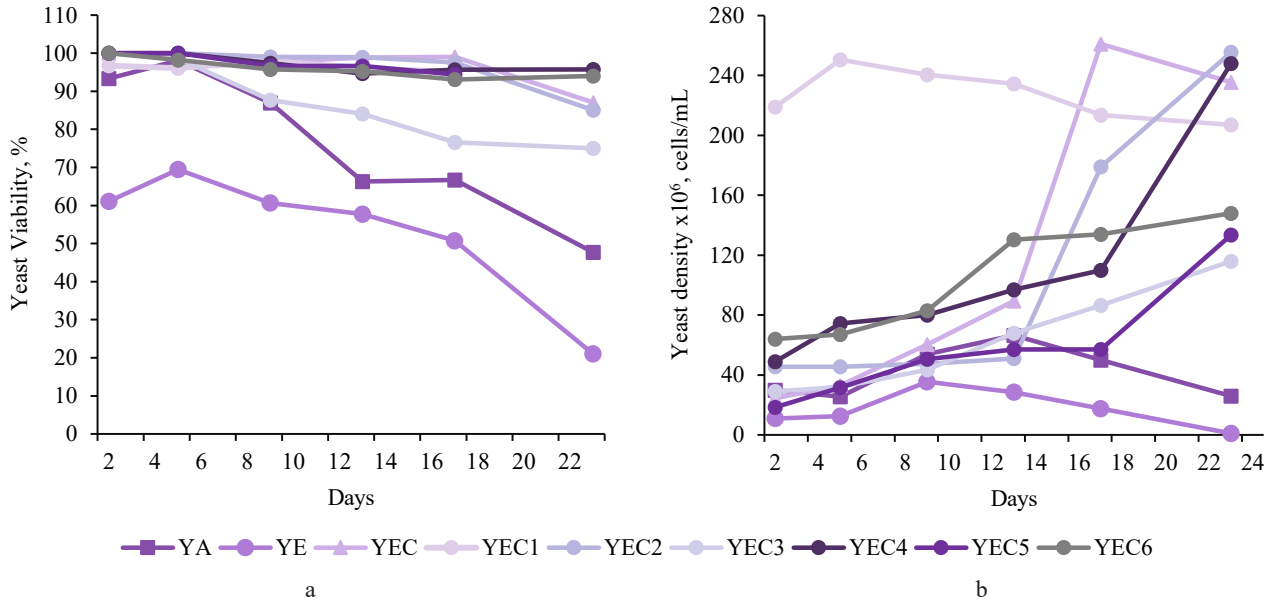


Figure 3. Yeast growth based on (a) cell viability and (b) density across the treated samples compared to the control. The results are mean ± SD of six measurements, where YA: yeast alone; YE: yeast + 1% ethanol; YEC: yeast + 0.1% *Chlorella vulgaris*; YEC1: yeast + 0.1% *Chlorella vulgaris* + 1% ethanol; YEC2: yeast + 0.5% *Chlorella vulgaris* + 1% ethanol; YEC3: yeast + 1% *Chlorella vulgaris* + 1% ethanol; YEC4: yeast + 2% *Chlorella vulgaris* + 1% ethanol; YEC5: yeast + 3% *Chlorella vulgaris* + 1% ethanol; YEC6: yeast + 4% *Chlorella vulgaris* + 1% ethanol

Рисунок 3. Рост дрожжей на основе (a) жизнеспособности клеток и (b) плотности в обработанных образцах по сравнению с контролем. Результаты представляют собой среднее значение ± стандартное отклонение шести измерений, где YA – только дрожжи; YE – дрожжи + 1 % этанола; YEC – дрожжи + 0,1 % хлореллы обыкновенной; YEC1 – дрожжи + 0,1 % хлореллы обыкновенной + 1 % этанола; YEC2 – дрожжи + 0,5 % хлореллы обыкновенной + 1 % этанола; YEC3 – дрожжи + 1 % хлореллы обыкновенной + 1 % этанола; YEC4 – дрожжи + 2 % хлореллы обыкновенной + 1 % этанола; YEC5 – дрожжи + 3 % хлореллы обыкновенной + 1 % этанола; YEC6 – дрожжи + 4 % хлореллы обыкновенной + 1 % этанола

of 74%. The positive (YA) and negative (YA) controls had 47.71 and 21.01% viability, respectively. This drastic reduction in viability was due to lysis of the yeast cells caused by ethanol.

The cell density followed a similar upward trend with the addition of *C. vulgaris* extracts (Fig. 3b). The negative (YA) and positive (YE) controls had cell densities of 30 and 11×10^6 cells/mL, respectively, on the 2nd day of storage. Their cell densities gradually increased until day 13 to mark a lag phase (66.5 and 28.5×10^6 cells/mL for YA and YE, respectively). On day 17, both controls showed a marked decrease in the cell density (from 50 and 17.5×10^6 cells/mL for YA and YE, respectively). By day 23, they entered a death phase (26 and 1×10^6 cells/mL for YA and YE, respectively). Among the extract-treated samples, YEC1 maintained a higher cell density than the others.

Although ethanol is a final product of anaerobic fermentation of sugars by *S. cerevisiae*, it is toxic to yeast cells. Moreover, ethanol induces stress responses such as the expression of heat shock proteins and the accumulation of trehalose [39]. Cell death is the most obvious irreversible effect of ethanol on yeast. The cell density is an aggregate of total yeast cells (both living and dead), whereas the cell viability is a percentage of viable yeast cells in the medium. We observed the viability of the yeast culture in a Sabura medium for 23 days by comparing the percentages of living and dead cells. We also calculated the cell density (cells/mL) at daily intervals to determine how the cells multiply.

Kubota *et al.* showed how different concentrations of ethanol reduced cell viability within 6 h during the log phase of cell growth [40]. The bioactive compounds (phytochemicals) from the dry *C. vulgaris* have important characteristics that enhance yeast viability. In our study, different concentrations of *C. vulgaris* extract greatly extended the mean chronological life span of the yeast cultured in ethanolic media (Fig. 3a and b). The mean lifespan is directly proportional to the survival rates of organisms in a population during the development and maturity stages of organismal aging. It is also likely to be affected by certain extrinsic (environmental) factors [41, 42]. From this, we can assume that the extracts decrease the extrinsic rate of yeast chronological aging before the cells enter quiescence or senescence. The maximum lifespan is referred to a “healthy” life period during the quiescence/senescence stage of organismal aging. It is likely to be controlled by certain intrinsic (cellular and organismal) longevity modifiers [43]. We can, therefore, conclude that the extracts also decrease

the intrinsic rate of yeast chronological aging after the cells enter quiescence or senescence.

Our previous works showed that *C. vulgaris* extracts enhanced yeast viability for 17 days and *C. vulgaris* powder improved yeast characteristics in the presence of 5% ethanol after 5 days [6, 13]. In a study where the brewer's yeast was treated with lethal doses of four highly toxic substances (mercury, copper, cadmium, and polychlorobiphenyl), the yeast remained alive when these poisonous substances were supplemented with *C. vulgaris* extract [9]. Lutchman *et al.* found that plant extracts increased the chronological lifespan of yeast more significantly than any of the longevity-extending chemical compounds known to date [44]. They noted that the extracts decreased the rate of yeast aging by eliciting a hormetic stress response. A recent study found that *C. vulgaris* stimulates the growth of *Lactobacillus acidophilus*, an important bacterium that keeps the intestines healthy [23]. This can be explained by large amounts of chlorophyll and fibrous cell walls in *C. vulgaris* that cause the beneficial lactic acid bacteria in the gut to multiply four times the usual rate and remove the foul smell of the stools. As a result, digestion and assimilation of nutrients are vastly improved. In our study, these compounds were responsible for the improved growth of yeast cells in the ethanolic medium. *C. vulgaris* has also been shown to stimulate the production of beneficial bacteria in the bowel, which in turn has a probiotic effect of strengthening the gut flora and preventing disease.

Conclusion

Chlorella vulgaris is an alga of significant interest to scientists due to its nutritive components such as bioactive compounds. However, care needs to be taken as to which extraction method to use for each group of these compounds. Our results showed greater efficiency in using water as a solvent to extract aqueous compounds. We concluded that the abundance of phenols and flavonoids in the extracts was due to the hydrophilic character of the solvent. Also, the phenolic compounds in *C. vulgaris* proved beneficial for the growth of *Saccharomyces cerevisiae* cells in an ethanolic medium, protecting them from the toxic effects of ethanol. However, there is a need for further research to identify individual compounds responsible for decreasing the chronological aging of *S. cerevisiae* and explore the mechanism behind this protective effect. Also, viability alone is not an accurate measure of the cells' effectiveness in fermentation – it is critical to understand their vitality. Finally, *C. vulgaris* extracts need to be added during the brewing process to understand if they will have any adverse physiological effects on the beer quality.

Conflict of interest

The author declares no conflict of interest.

Acknowledgments

The author gratefully acknowledges research support from the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation (Ural Federal University Program of Development within the Priority-2030 Program).

Конфликт интересов

Автор заявляет об отсутствии конфликта интересов, связанного с публикацией данной статьи.

Благодарности

Автор выражает благодарность Министерству науки и высшего образования Российской Федерации за поддержку исследования (Программа развития Уральского федерального университета в рамках Программы «Приоритет-2030»).

References

1. Rani K, Sandal N, Sahoo PK. A comprehensive review on chlorella – its composition, health benefits, market and regulatory scenario. The Pharma Innovation Journal. 2018;7(7):584–589.

2. Okechukwu QN, Adepoju FO, Hassani MI, Kovaleva EG, Rao AR, Ravishankar GA. Suitability of microalgae and fungi in meat analogs: an overview. In: Ravishankar GA, Rao AR, Tahergorabi R, Mohan A, editors. Handbook of plant-based meat analogs. Innovation, technology and quality. Academic Press; 2024. pp. 121–146. https://doi.org/10.1016/B978-0-443-21846-0.00017-4

3. Dolganyuk V, Belova D, Babich O, Prosekov A, Ivanova S, Katserov D, *et al.* Microalgae: A promising source of valuable bioproducts. Biomolecules. 2020;10(8):1153. https://doi.org/10.3390/biom10081153

4. Kumar N, Goel N. Phenolic acids: Natural versatile molecules with promising therapeutic applications. Biotechnology Reports. 2019;24:e00370. https://doi.org/10.1016/j.btre.2019.e00370

5. Plaza M, Santoyo S, Jaime L, Avalo B, Cifuentes A, Reglero G, *et al.* Comprehensive characterization of the functional activities of pressurized liquid and ultrasound-assisted extracts from *Chlorella vulgaris*. LWT – Food Science and Technology. 2012;46(1):245–253. https://doi.org/10.1016/j.lwt.2011.09.024

6. Okechukwu QN, Yama I, Kovaleva EG. Enzymatic extraction of growth factor in *Chlorella* and possible protective effects of *Chlorella* extracts on yeast growth. AIP Conference Proceedings. 2020;2280(1):030013. https://doi.org/10.1063/5.0018029

7. Ścieszka S, Gorzkiewicz M, Klewicka E. Innovative fermented soya drink with the microalgae *Chlorella vulgaris* and the probiotic strain *Levilactobacillus brevis* ŁOCK 0944. LWT. 2021;151:112131. https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.112131

8. Dantas DMM, Cahú TB, Oliveira CYB, Abadie-Guedes R, Roberto NA, Santana WM, *et al. Chlorella vulgaris* functional alcoholic beverage: Effect on propagation of cortical spreading depression and functional properties. PLoS ONE. 2021;16(8):e0255996. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0255996

9. Chlorella – the most exciting nutritional discovery on planet earth. Abeille d'Or Corporation; 2014. 56 p.

10. Pantoja Munoz L, Purchase D, Jones H, Raab A, Urgast D, Feldmann J, *et al.* The mechanisms of detoxification of As(III), dimethylarsinic acid (DMA) and As(V) in the microalga *Chlorella vulgaris*. Aquatic Toxicology. 2016;175:56–72. https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2016.02.020

11. Laopaiboon L, Suporn S, Klanrit P, Phukoetphim N, Daengbussadee C, Laopaiboon P. Novel effective yeast strains and their performance in high gravity and very high gravity ethanol fermentations from sweet sorghum juice. Energies. 2021; 14(3):557. https://doi.org/10.3390/en14030557

12. Coffman RE, Kraichely KN, Kreutzberger AJB, Kiessling V, Tamm LK, Woodbury DJ. Drunken lipid membranes, not drunken SNARE proteins, promote fusion in a model of neurotransmitter release. Frontiers in Molecular Neuroscience. 2022;15:1022756. https://doi.org/10.3389/fnmol.2022.1022756

13. Okechukwu QN, Kanwugu ON, Adadi P, Okpala COR, Kovaleva EG. Potential of *Chlorella vulgaris* powder to enhance ethanol-cultured *Saccharomyces cerevisiae*. Journal of Taibah University for Science. 2023;17(1):2187602. https://doi.org/10.1080/16583655.2023.2187602

14. Karabín M, Jelínek L, Kotrba P, Cejnar R, Dostálek P. Enhancing the performance of brewing yeasts. Biotechnology Advances. 2018;36(3):691–706. https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2017.12.014

15. Samakkarn W. Ratanakhanokchai K, Soontorngun N. Reprogramming of the ethanol stress response in *Saccharomyces cerevisiae* by the transcription factor Znf1 and its effect on the biosynthesis of glycerol and ethanol. Applied and Environmental Microbiology. 2021;87(16):e00588-21. https://doi.org/10.1128/AEM.00588-21

16. Kupina S, Fields C, Roman MC, Brunelle SL. Determination of total phenolic content using the Folin-C assay: Single-laboratory validation, first action 2017.13 Journal of AOAC International. 2018;101(5):1466–1472. https://doi.org/10.5740/jaoacint.18-0031

17. Huang R, Wu W, Shen S, Fan J, Chang Y, Chen S, *et al.* Evaluation of colorimetric methods for quantification of citrus flavonoids to avoid misuse. Analytical Methods. 2018;10(22):2575–2587. https://doi.org/10.1039/C8AY00661J

18. Adadi P, Kovaleva EG, Glukhareva TV, Barakova NV. Production and investigations of antioxidant rich beverage: Utilizing *Monascus purpureus* IHEM LY2014-0696 and various malts. Agronomy Research. 2018;16(S2):1312–1321. https://doi.org/10.15159/AR.18.028

19. Essiedu JA, Adadi P, Kovaleva EG. Production and characterization of beer supplemented with *Hibiscus sabdariffa* (Malvaceae). Food Frontiers. 2021;3(2):328–338. https://doi.org/10.1002/fft2.127

20. Haida Z, Hakiman M. A comprehensive review on the determination of enzymatic assay and nonenzymatic antioxidant activities. Food Science and Nutrition. 2019;7(5):1555–1563. https://doi.org/10.1002/fsn3.1012

21. Kitada K, Machmudah S, Sasaki M, Goto M, Nakashima Y, Kumamoto S, *et al.* Antioxidant and antibacterial activity of nutraceutical compounds from *Chlorella vulgaris* extracted in hydrothermal condition. Separation Science and Technology. 2009;44(5):1228–1239. https://doi.org/10.1080/01496390902729056

22. Scieszka S, Klewicka E. Influence of the microalga *Chlorella vulgaris* on the growth and metabolic activity of *Lactobacillus* spp. bacteria. Foods. 2020;9(7):959. https://doi.org/10.3390/foods9070959

23. Csatlos N-I, Simon E, Teleky B-E, Szabo K, Diaconeasa ZM, Vodnar D-C, *et al.* Development of a fermented beverage with *Chlorella vulgaris* powder on soybean-based fermented beverage. Biomolecules. 2023;13(2):245. https://doi.org/10.3390/biom13020245

24. Krishnamoorthy A, Rodriguez C, Durrant A. Sustainable approaches to microalgal pre-treatment techniques for biodiesel production: A review. Sustainability. 2022;14(16):9953. https://doi.org/10.3390/su14169953

25. Kulkarni S, Nikolov Z. Process for selective extraction of pigments and functional proteins from *Chlorella vulgaris*. Algal Research. 2018;35:185–193. https://doi.org/10.1016/j.algal.2018.08.024

26. Okechukwu QN, Adadi P, Kovaleva EG. Production and analysis of beer supplemented with *Chlorella vulgaris* powder. Fermentation. 2022;8(11):581. https://doi.org/10.3390/fermentation8110581

27. Dantas DMM, Costa RMPB, Carneiro-da-Cunha MG, Galvez AO, Drummond AR, Bezerra RS. Bioproduction, antimicrobial and antioxidant activities of compounds from *Chlorella vulgaris*. Research and Reviews: Journal of Botanical Sciences. 2015;4(2):12–18.

28. Vieira MV, Turkiewicz IP, Tkacz K, Fuentes-Grünewald C, Pastrana LM, Fuciños P, *et al.* Microalgae as a potential functional ingredient: Evaluation of the phytochemical profile, antioxidant activity and in-vitro enzymatic inhibitory effect of different species. Molecules. 2021;26(24):7593. https://doi.org/10.3390/molecules26247593

29. Munteanu IG, Apetrei C. Analytical methods used in determining antioxidant activity: A review. International Journal of Molecular Sciences. 2021;22(7):3380. https://doi.org/10.3390/ijms22073380

30. Baliyan S, Mukherjee R, Priyadarshini A, Vibhuti A, Gupta A, Pandey RP, *et al.* Determination of antioxidants by DPPH radical scavenging activity and quantitative phytochemical analysis of *Ficus religiosa*. Molecules. 2022;27(4):1326. https://doi.org/10.3390/molecules27041326

31. Christodoulou MC, Palacios JCO, Hesami G, Jafarzadeh S, Lorenzo JM, Domínguez R, *et al.* Spectrophotometric methods for measurement of antioxidant activity in food and pharmaceuticals. Antioxidants. 2022;11(11):2213. https://doi.org/10.3390/antiox11112213

32. Pak VV, Ezeriņa D, Lyublinskaya OG, Pedre B, Tyurin-Kuzmin PA, Mishina NM, *et al.* Ultrasensitive genetically encoded indicator for hydrogen peroxide identifies roles for the oxidant in cell migration and mitochondrial function. Cell Metabolism. 2020;31(3):642–653.e6. https://doi.org/10.1016/j.cmet.2020.02.003

33. Collin F. Chemical basis of reactive oxygen species reactivity and involvement in neurodegenerative diseases. International Journal of Molecular Sciences. 2019;20(10):2407. https://doi.org/10.3390/ijms20102407

34. Bhuvana P, Sangeetha P, Anuradha V, Syed Ali M. Spectral characterization of bioactive compounds from microalgae: *N. oculata* and *C. vulgaris*. Biocatalysis and Agricultural Biotechnology. 2019;19:101094. https://doi.org/10.1016/j.bcab.2019.101094

35. Goiris K, Muylaert K, Voorspoels S, Noten B, de Paepe D, Baart GJE, *et al.* Detection of flavonoids in microalgae from different evolutionary lineages. Journal of Phycology. 2014;50(3):483–492. https://doi.org/10.1111/jpy.12180

36. Zakaria SM, Kamal SMM, Harun MR, Omar R, Siajam SI. Subcritical water technology for extraction of phenolic compounds from *Chlorella* sp. microalgae and assessment on its antioxidant activity. Molecules. 2017;22(7):1105. https://doi.org/10.3390/molecules22071105

37. Liu J, Chen F. Biology and industrial applications of *Chlorella*: Advances and prospects. In: Posten C, Chen SF, editors. Microalgae biotechnology. Cham: Springer; 2016. pp. 1–35. https://doi.org/10.1007/10_2014_286

38. Michalak M, Pierzak M, Kręcisz B, Suliga E. Bioactive compounds for skin health: A review. Nutrients. 2021;13(1):203. https://doi.org/10.3390/nu13010203

39. Postaru M, Tucaliuc A, Cascaval D, Galaction A-I. Cellular stress impact on yeast activity in biotechnological processes – A short overview. Microorganisms. 2023;11(10):2522. https://doi.org/10.3390/microorganisms11102522

40. Kubota S, Takeo I, Kume K, Kanai M, Shitamukai A, Mizunuma M, *et al.* Effect of ethanol on cell growth of budding yeast: Genes that are important for cell growth in the presence of ethanol. Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry. 2004;68(4):968–972. https://doi.org/10.1271/bbb.68.968

41. Flatt T, Partridge L. Horizons in the evolution of aging. BMC Biology. 2018;16:93. https://doi.org/10.1186/s12915-018-0562-z

42. Li S, Vazquez JM, Sudmant PH. The evolution of aging and lifespan. Trends in Genetics. 2023;39(11):830–843. https://doi.org/10.1016/j.tig.2023.08.005

43. Kumari R, Jat P. Mechanisms of cellular senescence: Cell cycle arrest and senescence associated secretory phenotype. Frontiers in Cell and Developmental Biology. 2021;9:645593. https://doi.org/10.3389/fcell.2021.645593

44. Lutchman V, Medkour Y, Samson E, Arlia-Ciommo A, Dakik P, Cortes B, *et al.* Discovery of plant extracts that greatly delay yeast chronological aging and have different effects on longevity-defining cellular processes. Oncotarget. 2016;7:16542–16566. https://doi.org/10.18632/oncotarget.7665

ISSN 2074-9414 (Print)
ISSN 2313-1748 (Online)

https://doi.org/10.21603/2074-9414-2024-2-2508
https://elibrary.ru/HKNCPP

Обзорная статья
https://fptt.ru

Мировой рынок химических средств защиты растений: потенциальные потери урожая, тренды и перспективы производства пестицидов для экономики России

А. И. Тареев[1,*], А. В. Березнов[2], В. В. Смирнов[3], А. А. Тареева[3,4], С. С. Кислая[3]

[1] *ООО «Белин», Москва, Россия*

[2] *Всероссийский научно-исследовательский институт агрохимии имени Д. Н. Прянишникова, Москва, Россия*

[3] *Финансовый университет при Правительстве Российской Федерации, Москва, Россия*

[4] *Всероссийский научно-исследовательский институт фитопатологии, Большие Вяземы, Россия*

Поступила в редакцию: 25.12.2023
Принята после рецензирования: 20.04.2024
Принята к публикации: 07.05.2024

**А. И. Тареев: alexander.t@belinrussia.ru, https://orcid.org/0009-0006-0433-8019*
А. В. Березнов: https://orcid.org/0009-0005-5889-0899
В. В. Смирнов: https://orcid.org/0000-0002-5280-5244
А. А. Тареева: https://orcid.org/0000-0002-1392-5788
С. С. Кислая: https://orcid.org/0009-0002-7336-7551

© А. И. Тареев, А. В. Березнов, В. В. Смирнов, А. А. Тареева, С. С. Кислая, 2024

Аннотация.
Для обеспечения продовольственной безопасности и экономического роста России необходим постоянный мониторинг мирового рынка пестицидов. Это поможет аграриям спрогнозировать стабильность поставок современных средств химизации и обеспечить получение ежегодных высоких урожаев. В работе проанализировали существующие проблемы, которые связаны с защитой растений от вредных организмов, обозначили направления рынка химических средств защиты растений и спрогнозировали их влияние на экономику России.
Объектом исследования являлся мировой рынок химических средств защиты растений. Применили комплексный подход, основанный на анализе и синтезе, аналогии, сопоставлении и прогнозировании. Основу исследования составили федеральные законы и постановления Правительства РФ, Министерства сельского хозяйства РФ, Россельхознадзора РФ, данные международной (Phillips McDougal, Kynetec, NBS Китая, Chemexcil Индии) и российской статистики (Росстат, BusinesStat, Zerno.ru и др.), научных и информационно-аналитических баз (eLIBRARY.RU, АгроXXI, AgroPages) за период с 2018 по 2024 гг.
В результате исследования сделали обзор современного состояния химических средств защиты растений с акцентом на Индию, Китай и Россию. Оценили потери урожайности в абсолютном и относительном выражении. Показали долю рынка химических средств защиты растений по странам-импортерам и ключевым поставщикам пестицидов в РФ. Выявили основные проблемы, такие как ограничение доступности действующих веществ и квотирование ввоза готовых препаративных форм в РФ. Данное исследование позволило подчеркнуть растущий спрос на химические средства защиты растений, несмотря на ограничения использования или полный запрет ряда опасных пестицидов. Анализ данных свидетельствует о том, что объемы применения химических средств защиты растений в 2024 г. прогнозируются на уровне 2023 г., т. к. на складах РФ имеются большие запасы. Погодные условия также будут благоприятствовать оптимальному росту и развитию растений. Поэтому можно утверждать, что российские аграрии соберут около 142 млн т зерновых, в т. ч. 92–95 млн т пшеницы.
Ежегодное проведение подобных исследований будет способствовать уменьшению риска потерь урожайности и получению продукции высокого качества за счет принятия оперативных мер государственного регулирования и господдержки. Это позволит наращивать внутреннее потребление продукции сельского хозяйства и экспортный потенциал страны.

Ключевые слова. Продовольственная безопасность, урожайность, агрохимикаты, экономическая эффективность, импортозамещение, экспорт, импорт, прогноз, синтез, контроль оборота пестицидов, квотирование импорта

Для цитирования: Мировой рынок химических средств защиты растений: потенциальные потери урожая, тренды и перспективы производства пестицидов для экономики России / А. И. Тареев [и др.] // Техника и технология пищевых производств. 2024. Т. 54. № 2. С. 310–329. https://doi.org/10.21603/2074-9414-2024-2-2508

https://doi.org/10.21603/2074-9414-2024-2-2508
https://elibrary.ru/HKNCPP

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

Global Market of Chemical Crop Protection Agents: Forecasting Yield Losses and Economic Prospects for Domestic Pesticide Production

Alexander I. Tareev[1,*], Alexey V. Bereznov[2], Valery V. Smirnov[3], Anna A. Tareeva[3,4], Sofya S. Kislaya[3]

[1] *Belin LLC, Moscow, Russia*

[2] *D.N. Pryanishnikov All-Russian Research Institute of Agrochemistry, Moscow, Russia*

[3] *Financial University under the Government of the Russian Federation, Moscow, Russia*

[4] *All-Russian Research Institute of Phytopathology, Bolshie Vyazemy, Russia*

Received: 25.12.2023
Revised: 20.04.2024
Accepted: 07.05.2024

**Alexander I. Tareev: alexander.t@belinrussia.ru, https://orcid.org/0009-0006-0433-8019*
Alexey V. Bereznov: https://orcid.org/0009-0005-5889-0899
Valery V. Smirnov: https://orcid.org/0000-0002-5280-5244
Anna A. Tareeva: https://orcid.org/0000-0002-1392-5788
Sofya S. Kislaya: https://orcid.org/0009-0002-7336-7551

© A.I. Tareev, A.V. Bereznov, V.V. Smirnov, A.A. Tareeva, S.S. Kislaya, 2024

Abstract.
To ensure its food security and economic growth, Russia needs to monitor the global pesticide market because constant monitoring predicts supply stability and provides annual high yields. The article describes the current issues associated with agricultural pesticide, analyzes the development directions on the global pesticide market, and predicts its impact on the Russian economy.

To analyze the global market of chemical plant protection products, the authors applied an integrated approach based on analysis, synthesis, analogy, comparison, and forecasting. The research relied on the domestic laws and standards issued by the Ministry of Agriculture and the Federal Service for Veterinary and Phytosanitary Surveillance. Other sources included statistics obtained from foreign agencies (Phillips McDougal; Kynetec; NBS, China; Chemexcil, India) and Russian institutions (Rosstat, BusinesStat, Zerno.ru, etc.). The review included articles published in scientific and analytical databases, i.e., eLIBRARY.RU, AgroXXI, and AgroPages in 2018–2024.

The analysis concentrated on India, China, and the Russian Federation. It covered absolute and relative harvest losses, as well as the market share of importing countries and key suppliers on Russian pesticide market. The demand for chemical pesticides continues to grow, despite restrictions or prohibitions of some hazardous pesticides. Some active ingredients were partially unavailable while finished formulations were subjected to import quotas. In 2024, Russia will be using as many chemical plant protection products as in 2023 since the domestic warehouses store large reserves. The weather conditions are likely to ensure optimal plant growth. Russian farmers will harvest about 142 million tons of grain, including 92–95 million tons of wheat.

If repeated annually, this research may reduce the risk of harvest losses and allow the state to adopt prompt regulation measures to obtain high-quality products, thus increasing the domestic consumption and export potential.

Keywords. Agrochemicals, food safety, yield, economic efficiency, export, import, forecast, information technology, active ingredients, synthesis, import substitution, control of pesticide turnover, import quotas

For citation: Tareev AI, Bereznov AV, Smirnov VV, Tareeva AA, Kislaya SS. Global Market of Chemical Crop Protection Agents: Forecasting Yield Losses and Economic Prospects for Domestic Pesticide Production. Food Processing: Techniques and Technology. 2024;54(2):310–329. (In Russ.). https://doi.org/10.21603/2074-9414-2024-2-2508

Введение

У выдающегося советского ученого и почетного академика ВАСХНИЛ В. И. Эдельштейна есть афоризм: «Агротехника без биологии слепа, без механизации мертва, но всё решает неумолимая экономика» [1]. Исходя из структуры затрат на выращивание сельскохозяйственных культур, доля средств защиты растений занимает около 7 % в общей себестоимости единицы продукции [2–4].

В различных литературных источниках имеется большое количество публикаций по химическим средствам защиты растений, в которых показана их роль в получении высокого и стабильного урожая сельско-

хозяйственных культур, которые являются основой экономического благосостояния населения планеты. Без использования средств защиты растений в сельскохозяйственном производстве невозможно обеспечить продовольственную безопасность и независимость Российской Федерации.

Согласно Указу Президента Российской Федерации (от 21.01.2020 г. № 20 «Об утверждении Доктрины продовольственной безопасности Российской Федерации») продовольственная независимость Российской Федерации – это самообеспечение страны основными видами отечественной сельскохозяйственной продукции, сырья и продовольствия. Без правильного и разумного использования средств защиты растений ограничивается экономическая доступность продовольствия: возможность приобретения пищевой продукции должного качества по сложившимся ценам в объемах и ассортименте, которые соответствуют рекомендуемым рациональным нормам потребления.

Цель работы – показать существующие проблемы, связанные с защитой растений от вредных организмов, обозначить направления рынка средств химических средств защиты растений и спрогнозировать их влияние на экономику России.

Объекты и методы исследования

Объектом исследования являлся мировой рынок химических средств защиты растений, предметом – влияние рынка химических средств защиты растений на экономику РФ. В ходе исследования использовали комплексный подход, основанный на анализе и синтезе, аналогии, сопоставлении и прогнозировании. Информационную базу исследования составили данные международной и российской статистики, научных и информационно-аналитических баз, в т. ч. Минпромторга, Международного валютного фонда, ФАО, ООН, указов президента РФ, законов РФ, распоряжений правительства РФ, Министерства сельского хозяйства РФ, Россельхознадзора, Торгово-промышленной палаты России, Российского союза производителей химических средств защиты растений, Евразийского экономического союза, международных выставок по агрохимии, национального бюро статистики Китая, Совета по содействию экспорту химических веществ при Министерстве торговли и промышленности Правительства Индии, технического комитета по общепринятым названия действующих веществ пестицидов, аналитических агентств и маркетинговых исследований рынка пестицидов, специализированных конференций и материалов периодической печати, отражающих различные аспекты исследуемой проблемы.

Результаты и их обсуждение

Потенциальные потери урожайности. Обеспечение продовольственной безопасности сопряжено с рисками и угрозами, которые могут ее снизить. Одной из категорий риска являются ветеринарные и фитосанитарные риски, связанные с возникновением и распространением ранее не регистрировавшихся на территории Российской Федерации массовых заразных болезней животных, а также с распространением болезней и вредителей растений [2]. В мире насчитывается 9000 вредных видов насекомых, 50 000 возбудителей болезней и 8000 сорных растений. Более 70 % из них – инвазивные виды [5, 6]. Для 3–4 тыс. используемых человеком культурных растений известно около 30 тыс. видов возбудителей: 25 тыс. грибковых болезней, 600 вызывают черви-нематоды, более 200 – бактерии, более 300 – вирусы. У риса и пшеницы известны по 100 возбудителей болезней, у кукурузы – 60, у ячменя и сорго – по 50 [7].

Например, эпифитотии, вызвавшие гибель урожая картофеля в Ирландии в 1845 и 1847 гг., были причиной голода и массовой иммиграции населения в Северную Америку. В 1845 г. в Ирландии проживало около 8 млн человек, из которых для 6 млн картофель составлял половину пищевого рациона, а остальные питались только картофелем. Из-за гибели урожая люди потеряли источник существования. За голодом последовали инфекционные болезни [8–10]. В 1917 г. фитофтороз уничтожил большую часть урожая картофеля в Германии, что привело к голоду гражданского населения и сокращению продовольственного снабжения войск. Указанные обстоятельства дестабилизировали Германскую империю и ускорили окончание I Мировой войны [11]. Кроме болезней растений, на урожай влияют насекомые. Например, саранча, которая способна нанести серьезный вред сельскому хозяйству. Саранча была известна еще в Древнем Египте, о чем свидетельствуют ее изображения на фресках и папирусах 5000-летней давности. В 125 г. до н. э. в римских провинциях Киренаика и Нумидия (Северная Африка) стая саранчи уничтожила все посевы пшеницы и ячменя. От голода умерло все население провинций – почти 800 тыс. человек [12, 13]. Заместитель Генерального секретаря ООН по гуманитарным вопросам Я. Эгеланн, призывая профинансировать применение инсектицидов против саранчи, заявил изданию «The Independent» о том, что «Речь идет о большей опасности для выживания населения, чем представляет любой вооруженный конфликт в Африке» [14]. К. Крессман в своем интервью газете «The Seattle Times» высказал мнение о том, что стая саранчи среднего размера может уничтожить столько же пищи, сколько все население Кении [15]. В 2022 г. издание «Московские новости» сообщило о том, что саранча поставила под угрозу урожай сардинских фермеров: насекомые могут «съесть» 60 тыс. га посевов. В том же году вредителями были атакованы поля в ЮАР и России [16].

Прогнозируемый дефицит посевных площадей и потери урожая от вредных объектов сократят производство продовольствия, необходимого для питания населения планеты. По оценкам ООН, к 2050 г. численность населения мира достигнет почти 10 млрд человек [17].

Данный прогноз указывает на необходимость повышения эффективности технологий растениеводства, в том числе использования современных средств защиты растений, а также селекции устойчивых к болезням и вредителям сортов, которые позволят снизить потери урожайности от вредных организмов ниже уровня экономического порога вредоносности. По данным ООН, ежегодные потери урожая сельскохозяйственных культур от вредных организмов составляют более 30 %, а в некоторых странах до 80 % в год [18].

В разные годы почти весь урожай в некоторых странах мира уничтожался саранчой, клопом-черепашкой или другими вредителями [19]. Без применения химических средств защиты растений потери урожая в мире выросли бы наполовину, а цены на полученную сельскохозяйственную продукцию в 2–3 раза [2]. По официальным данным ФАО, ежегодные потенциальные потери урожая от болезней и вредителей в мире составляют около 35 %, в том числе от вредителей – 14 %, болезней – 12 %, сорняков – 9 %. Этим количеством продуктов можно прокормить 600 млн человек [19]. Согласно другим источникам потери урожая от вредителей, болезней и сорняков составляют более 30 % от валового сбора продукции растениеводства, также потери снижают качество продукции. Такие культуры, как картофель и сахарная свекла, практически невозможно вырастить без проведения защитных мероприятий. По оценкам экспертов, чтобы прокормить одного человека необходимо от 30 до 50 соток сельскохозяйственных угодий для выращивания данных культур. Мировой опыт показывает, что любая известная система земледелия в условиях высокой и перспективной формы интенсификации невозможна без организованной защиты растений [20].

В денежном выражении ежегодные потери мирового урожая оценивались в $70–80 млрд, на потери от вредителей приходилось 14 % стоимости мирового урожая, от болезней – 12 %, от сорняков – 9 % [19]. По сообщению агропромышленного портала Агро XXI, в 2019 г. потери только от болезней растений обходились мировой экономике в сумму около $220 млрд, а нашествие инвазивных насекомых в $70 млрд [21]. Во всем мире потери урожая в 2050 г., по сравнению с 2000 г., могут составить 24 % для кукурузы, 11 % для риса, 9 % для картофеля и 3 % для пшеницы. Потери урожая сельскохозяйственных культур от массового распространения болезней могут достигать 30–50 % [22]. В России потенциальные потери урожая от вредителей, болезней и сорняков составили 26 % валовой продукции земледелия и оценивались в 16 млрд рублей. Благодаря применению средств защиты растений ежегодно сохраняется около 17–18 млн т зерна, 10–11 млн т картофеля, 13–14 млн т свеклы сахарной и других продуктов растениеводства [19]. По данным С. Н. Еланского, в годы эпифитотий продуктивность восприимчивых к болезни сортов картофеля без применения специальных средств может снижаться в 1,5–2 раза, а потери урожая достигать 50–60 % [23]. Фитопатогенные организмы могут оказывать негативное влияние не только на этапе выращивания сельскохозяйственных растений, но и на стадиях хранения и переработки сельскохозяйственного сырья, а также получения готовой товарной продукции [24].

Таким образом, если не использовать средства защиты растений, то, учитывая уровень возможных потенциальных потерь (30–40 %) от вредителей, болезней и сорняков, Россия может лишиться больших объемов экспортного потенциала зерновых культур. Например, за 2022–2023 сельскохозяйственный год (с 1 июля 2022 г. по 30 июня 2023 г.) Россия установила рекорд по объему экспорта зерна – 60 млн т [25]. По итогам прошлого года экспортная выручка составила свыше $41 млрд [16]. По данным Россельхознадзора, на 17 декабря 2023 г. экспорт зерна и продуктов его переработки из России достиг 79,9 млн т [17]. Кроме потерь урожая, может снизиться его качество. Например, при поражении пшеницы фузариозом колоса ее зерно становится не пригодным в пищу человеку и животным из-за образования микотоксинов.

Однако приведенные величины потерь не являются предельными, они растут с каждым годом. Стоимость сохраненного урожая может вырасти из-за роста цен. Одним из резервов увеличения валовых сборов сельскохозяйственной продукции является ликвидация потерь урожая от вредителей, болезней и сорняков. Это достигается комплексом мероприятий, которые включают приемы повышения культуры земледелия, карантинные, физические, механические и биологические методы, химические средства защиты растений [19]. Своевременное и эффективное проведение защитных мероприятий позволяет сохранить с каждого гектара по 2–3 ц зерна, не менее 15 ц картофеля, овощей, свеклы сахарной, плодов и винограда [26]. По данным Агентства Плодородия, в современных экономических условиях конкурентоспособность продукции растениеводства определяется степенью использования в ее производстве интенсивных и ресурсосберегающих технологий, в частности средств защиты растений [27].

Важным направлением в решении задач увеличения производства продукции растениеводства является рост использования передовых технологий химической защиты растений с элементами информационных технологий на основе организационно-хозяйственных государственных мероприятий по увеличению доли хозяйств и площадей культур с высоким потенциалом продуктивности и применения интегрированной системы защиты растений с 20 до 50 % [28]. В условиях тотального снижения обрабатываемых площадей одним из приоритетных направлений эффективного ведения сельского хозяйства является современное растениеводство, которое нуждается в увеличении финансирования и вовлечении в механизм государственной поддержки. Особая роль в механизме государственной поддержки

и стимулировании сельскохозяйственных товаропроизводителей принадлежит научно-обоснованным мерам по защите растений от вредных организмов [29].

Программой фундаментальных научных исследований, утвержденной Распоряжением Правительства РФ № 3684-р от 31.12.2020 г., на период 2021–2030 гг. предусмотрено создание новых природоподобных, биологических и химических средств защиты растений, а также системы рационального применения средств химической и биологической защиты сельскохозяйственных растений с использованием цифровых технологий.

Исследования, проведенные В. А. Захаренко, демонстрируют показатели сохраняемого урожая зерновых культур при использовании новых технологий (табл. 1), которые позволяют повысить рентабельность по определенным видам средств защиты растений до уровня 171,81 % (табл. 2) [28, 30].

В литературных источниках приводятся формулы для оценки затрат применения пестицидов на единицу площади, но отсутствуют расчеты потенциальных экономических потерь всей производственной цепи, связанной с урожаем сельскохозяйственных культур и дальнейшей переработкой продукции [28]. Например, каковы будут потери мукомольной и пищевой промышленности и других связанных отраслей при определенных значениях потери урожая? Сколько может быть потеряно рабочих мест в отраслях, связанных с производством продукции АПК? Это могут быть огромные суммы, т. к. продукция сельского хозяйства затрагивает практически все отрасли. Если минимизировать потери, то можно снизить себестоимость продукции, повысить качество и объемы агроэкспорта. Можно добиться сокращения площадей под сельскохозяйственными культурами, что позволит оптимизировать расходы и сбалансировать земельные ресурсы, включая истощение почв. Рациональное землепользование с применением определенных средств защиты растений является важным инструментом для снижения влияния абиотических факторов на сельскохозяйственное производство и повышения качества жизни человека.

Согласно Указу Президента № 642 от 01.12.2016 «О стратегии научно-технического развития Российской Федерации» одним из приоритетов является переход к высокопродуктивному и экологически чистому агро- и аквахозяйству, а также разработка и внедрение систем рационального применения средств химической и биологической защиты сельскохозяйственных растений.

В Распоряжении Правительства РФ от 15.12.2017 № 2834-р изложены следующие тезисы:

1. До 2030 г. будет внедрен план «дорожная карта» по урегулированию и совершенствованию производства на территории РФ малотоннажной химии, включая средства защиты растений;

2. Курс на импортозамещение мало- и среднетоннажной химии на территории РФ и развитие современных производств, способных конкурировать на внутреннем и мировом рынках;

3. Дополнительные затраты на рекламу, омологацию и техническое сопровождение работ при внедрении продукции у потребителя.

Президентом и уполномоченными органами РФ было сделано заявление об увеличении инвестирования в бизнес-процессы, связанные с мало- и среднетоннажной химической продукцией. Это говорит о необходимости наращивать производство собственных химических средств защиты растений для полного замещения импортируемых аналогов. Однако внутренний рынок средне- и малотоннажной химии России очень мал по сравнению с мировым.

Таблица 1. Общий сохраняемый урожай при использовании прогрессивных технологий с комплектующими узлами IT и точного земледелия

Table 1. Total harvest with advanced technologies, IT equipment, and precision farming

Культуры	Показатели	Инсектициды	Фунгициды	Гербициды
Зерновые	%	8,37	12,89	15,45
	ц/га	3,73	5,75	6,89
	рублей/га	3278	5049	6051

Таблица 2. Экономическая эффективность применения пестицидов на зерновых культурах с использованием элементов IT и точного земледелия в 2016–2018 гг.

Table 2. Economic efficiency of pesticides on grain crops with elements of IT and precision agriculture, 2016–2018

	Площадь обработки, тыс. га	Сохраненный урожай, млн рублей	Затраты всего, млн рублей	Чистый доход, млн рублей	Рентабельность, %
Инсектициды	2526	8262	3203	5059	157,95
Фунгициды	1832	9228	3521	5707	162,08
Гербициды	4855	29 494	10 851	18 643	171,81
Пестициды в целом	9213	46 984	17 575	29 409	167,33

Одной из важных составляющих химической отрасли для устойчивого развития сельского хозяйства, продовольственной безопасности и независимости является производство современных химических средств защиты растений, т. н. пестицидов. Пестициды – это вещества или смесь веществ, в том числе используемые в качестве регуляторов роста растений, феромонов, дефолиантов, десикантов и фумигантов, и препараты химического или биологического происхождения, предназначенные для борьбы с вредными организмами [31].

Использование химических соединений для защиты растений от болезней началось несколько тысяч лет назад. В XX веке до н. э. люди заметили, что вулканические выделения защищают зерновые от болезней, что привело к использованию серосодержащих препаратов в качестве средства защиты растений. До сих пор сера используется в защите растений от некоторых болезней [7].

Пестициды классифицируются по целевому назначению. Инсектициды (от лат. *insectum* «насекомое» и *caedo* «убиваю») – это химические препараты, которые направлены на уничтожение вредных насекомых, червей, их яиц и личинок. Фунгициды (от лат. *fungus* «гриб» и *caedo* «убиваю») – это химические вещества, способные полностью (фунгицидность) или частично (фунгистатичность) подавлять развитие возбудителей болезней сельскохозяйственных растений, а также используемые для борьбы с ними. Гербициды (от лат. *herba* «трава» и *caedo* «убиваю») – это вещества, уничтожающие нежелательные растения [31, 32]. Практически половину в структуре глобального рынка средств защиты растений занимают гербициды (около 45 %), затем фунгициды (около 28 %) и инсектициды (27 %).

Правила, регулирующие оборот химических средств защиты растений, во многих странах, включая США и европейские страны, с каждым годом становятся все более строгими [22]. Обращение с пестицидами на территории РФ осуществляется в соответствии с Федеральным законом от 19.07.1997 № 109-ФЗ (ред. от 03.04.2023) «О безопасном обращении с пестицидами и агрохимикатами». Данный Федеральный закон устанавливает правовые основы обеспечения безопасного обращения с пестицидами, в том числе с их действующими веществами, и агрохимикатами для охраны здоровья людей и окружающей среды. Пестицид или агрохимикат, зарегистрированный в соответствии со статьей 8 ФЗ № 109-ФЗ, вносится в Государственный каталог пестицидов и агрохимикатов, разрешенных к применению на территории Российской Федерации, который ведет Минсельхоз России. Данный каталог размещен на официальном сайте Минсельхоза России (www.mcx.ru).

Мировой рынок средств защиты растений. В 1960 г. мировая индустрия защиты растений оценивалась менее чем в $10 млрд и насчитывала около 100 зарегистрированных действующих веществ. По данным Phillips McDougall, объемы продаж средств защиты растений уже превысили $50 млрд (в 2018 г. – $55,3 млрд, в 2019 г. – $57,561 млрд), около 600 действующих веществ доступны аграриям во всем мире [33].

В мире в сфере защиты растений активно развиваются следующие направления: биотехнологии, включая биологические средства защиты и генную инженерию; технологии RNAi, воздействующие на РНК вредителей; точное и дифференцированное опрыскивание культур; нанотехнологии; комплексные средства защиты растений. Также совершенствуются системы мониторинга, прогнозирования и обнаружения болезней и вредителей, способы защиты и управления опылителями. Наиболее перспективными являются комплексные системы защиты растений, сочетающие в себе как химические, так и биологические средства защиты [34, 35]. Одним из главных инициаторов роста рынка биозащиты является Европа, где данный рынок вырос на 17 % за последние 5 лет. В декабре 2020 г. была запущена программа European Green Deal под названием From Farm to Fork или «от поля до вилки», цель которой – повышение эффективности сельскохозяйственного производства и оказание поддержки европейским производителям. Данная стратегия содержит ряд экологических инициатив, которые будут определять будущее европейского рынка химических средств защиты растений, среди которых сокращение потребления пестицидов на 50 % к 2030 г. и увеличение доли органической продукции до 25 % к 2030 г. [36].

С 1 января 2020 г. в России действует федеральный закон № 280-ФЗ «Об органической продукции и о внесении изменений в отдельные законодательные акты Российской Федерации». Данный закон регулирует отношения, связанные с производством, хранением, транспортировкой, маркировкой и реализацией органической продукции. Для обеспечения действия этого закона необходимо разрабатывать, регистрировать и внедрять в производство соответствующие средства защиты, которые способны минимизировать риски, присущие традиционным химическим пестицидам, и обеспечивать получение стабильного, высокого и качественного урожая при наименьших затратах.

Начиная с 2000 г., количество вновь выводимых на рынок химических средств защиты растений сократилось. Это сокращение связано со снижением числа новых гербицидов, а также фунгицидов и инсектицидов. Наряду с этим, наблюдается значительный рост числа биологических препаратов (всего 156 видов), объем вывода на рынок которых превышает количество выводимых на рынок новых видов химических гербицидов, инсектицидов и фунгицидов [36].

Несмотря на высокую эффективность и возрастающий каждый год объем применения химических средств защиты растений в мире и России, во многих странах начинают вводить ограничения регламентов применения и сокращать использование химических пестицидов высокого класса опасности для человека и окружающей среды. Например, Исполнительный комитет

Великобритании по здравоохранению и безопасности (HSE) считает необходимым ограничить оборот на национальном рынке трех пестицидов – манкоцеба, фамоксадона и индоксакарба. В странах ЕС под запрет попали популярные у российских аграриев препараты на основе следующих действующих веществ: бифентрин, диметоат, имидаклоприд, индоксакарб, карбендазим, пропиконазол, ципроконазол, хлорпирифос и т. д. Перечень запрещенных в ЕС пестицидов доступен на сайте EU Pesticides Database – Active substances (europa.eu). На сайте Россельхознадзора РФ представлен обзор под заголовком «Сокращение использования пестицидов и агрохимикатов актуально во всем мире», в котором сообщается о том, что в Чили ограничения затронут до 151 коммерческого бренда химических средств. Запрет вводится на производство, импорт, распространение, продажу, хранение и применение пестицидов с такими активными веществами, как бинапакрил, каптафол, хлорбензилат и дихлорид этилена.

Однако в течение последних 20 лет мировой рынок средств защиты растений продолжает рост, несмотря на локальные периоды снижения. По данным исследований, проведенных в 2022 г. РХТУ им. Д. И. Менделеева со ссылкой на Phillips McDougal, мировой рынок средств защиты растений в натуральном выражении в эквиваленте действующего вещества по итогам 2020 г. составил чуть более 3 млн т, увеличившись с 1,5 млн т в 1980 г. В денежном выражении объем мирового рынка препаратов для защиты растений увеличился в 2 раза: с $30 млрд в 2000 г. до $60 млрд в 2020 г. [37, 38].

T. Kippley и др. сообщают о росте рынка химических средств защиты растений в денежном выражении (табл. 3). Например, объем мирового рынка химических средств защиты растений, применяемых на полях сельскохозяйственного назначения, в 2021 г. оценивался более чем в $65,7 млрд, а на участках несельскохозяйственного пользования в $7,6 млрд [36].

По данным исследований Kynetec (Kleffmann Group), мировой рынок пестицидов в ценах производителей также продолжает рост: в 2021 г. он оценивался в $65 млрд, а в 2022 г. в $72 млрд. В 2021 г. прирост мирового рынка пестицидов составил 8 %, а 2020 г. 1 %. Если в 2021 г. рост мирового рынка химических средств защиты растений был обеспечен ростом площадей под ключевыми культурами, то в 2022 г. – это рекордный за последние 10 лет рост цен на продукты. По данным маркетинговой компании Mordor Intelligence, мировой рынок пестицидов вырастет с $66,04 млрд в 2023 г. до $80,35 млрд к 2028 г. и будет расти в среднем на 4 % в год. По данным аналитиков компании Growth Market Reports, объем мирового рынка пестицидов в 2022 г. составил $85,12 млрд, а к 2031 г. он достигнет $183,35 млрд, увеличившись в среднем на 8,9 % в течение прогнозируемого периода с 2023 по 2031 гг. [33, 39–41]. С середины 2000-х гг. более 50 % совокупного объема рыночных продаж приходится на 5–7 компаний – мировых лидеров в отраслевых сегментах производства агропрепаратов [22].

По данным аналитического агентства Science Agri, возглавляет список самых финансово крепких международных пестицидных копаний концерн Bayer после приобретения в 2018 г. американского гиганта Monsanto. В 2022 г. выручка Bayer составила $17,8 млрд, а чистая прибыль $5,1 млрд. На втором месте – Syngenta, которая получила почти $20 млрд выручки и $1,9 млрд чистой прибыли. Третья позиция у американской агрохимической компании Corteva Agriscience, выручка и чистая прибыль которой составила $17,4 и 1,2 млрд соответственно. В порядке убывания расположились FMC, UPL, Nufarm и Sumitomo Chemical. У компании BASF чистые убытки составляют $422 млн, а обязательства превышают активы. Если проанализировать рейтинг крупных стран, производящих гербициды, фунгициды и инсектициды, то лидером является Китай [41]. В региональном разрезе распределение долей региональных рынков выглядит следующим образом. На Северную Америку в 1998 г. приходилось 26,2 % мирового рынка средств защиты растений, но к 2018 г. эта доля снизилась до 16,7 %. Доля Европейского рынка снизилась с 25,9 до 23,4 %. Этот показатель был частично компенсирован за счет роста на рынках новых членов ЕС. Доля Азии на мировом рынке увеличилась благодаря развивающимся странам, а доли рынков Японии, Южной Кореи и Австралии снизились. Значительное увеличение доли приходится на Латинскую Америку [22].

Основными катализаторами роста рынка пестицидов являются увеличение посевных площадей, рост цен на действующие вещества, изменение метеорологических и геополитических условий, рост численности вредителей и болезней, влияющих на урожай-

Таблица 3. Динамика мирового рынка химических средств защиты растений, млн долл.

Table 3. Dynamics of global pesticide market, million dollars

Обрабатываемые земли	2016 г.	2017 г.	2018 г.	2019 г.	2020 г.	2021 г.
Земли сельскохозяйственного пользования	55,869	56,355	58,165	59,272	60,769	65,775
Участки не сельскохозяйственного назначения	6,458	6,568	6,916	7,130	7,191	7,644
Всего	62,327	62,923	65,081	66,409	67,960	73,419

ность. По оценке РХТУ им. Менделеева, совокупность перечисленных факторов оценивает ожидаемый прирост глобального рынка средств защиты растений на $20 млрд до 2030 г. с ежегодным темпом роста 2,5 % [37]. По сообщению Н. Лычева на конференции «Агротренды России», Китай и Индия (рис. 1) будут потенциальными рынками для РФ [42].

Китайский рынок химических средств защиты растений. По количеству получаемых пестицидов Китай конкурирует с такими транснациональными отраслевыми компаниями, как Bayer, Monsanto, BASF и Syngenta. Ежегодно в Китае вносится около 1806 млн кг пестицидов. На втором месте Соединенные Штаты Америки, которые используют около 386 млн кг химических средств защиты растений, затем идет Аргентина – 265 млн кг [42–46].

По данным Агентства Плодородия, в результате масштабных капиталовложений в китайское производство химических средств защиты растений экспорт пестицидов, произведенных в Китае, за 15 лет вырос на 46,5 % и в 2019 г. составил $4,1 млрд в год, сделав КНР мировой фабрикой по производству химических средств защиты растений [33].

Согласно данным Национального бюро статистики Китая в 2022 г. в КНР было произведено пестицидов на сумму 350 млрд юаней, а объем их производства составил около 1,86 млн т. Сегодня в Китае насчитывается около 1775 производителей пестицидов и около 1 млн работников пестицидной промышленности. Согласно статистике CCPIA в 2022 г. совокупный объем продаж 100 крупнейших предприятий пестицидной промышленности достиг более 254,414 млрд юаней. Двенадцать из этих предприятий также вошли в список 20 крупнейших агрохимических производителей мира, демонстрируя улучшение комплексной мощи и международной конкурентоспособности. К 2025 г. будут предприняты усилия по развитию 10 предприятий с объемом бизнеса более 5 млрд юаней, 50 предприятий с объемом бизнеса более 1 млрд юаней и 100 предприятия с объемом бизнеса свыше 500 млн юаней, в то время как объем бизнеса производителей пестицидов в индустриальных парках будет увеличен на 10 % [43–46].

В настоящее время почти 97 % всех действующих веществ, используемых при производстве российских химических средств защиты растений, ввозятся из Китая [47–49]. В Китае активно развивается собственный синтез активных веществ химических средств защиты растений. Технический комитет ИСО по общепринятым названиям пестицидов (ISO Technical Committee on Common Names for Pesticides) утвердил и опубликовал перечень новых общепринятых наименований действующих веществ (табл. 4), среди которых лидируют разработки китайских компаний [50–52].

На 23-й Китайской международной выставке агрохимии и средств защиты растений агрохимическая компания KingAgroot CropScience представила семь запатентованных соединений (ципирафлуон, бипиразон, трипирасульфон, фенпиразон, флуфеноксимацил, флухлораминопиртефурил и флусульфинам) и серию продуктов, полученных на их основе, а также объявила о своих будущих исследованиях. Однако в создании новых пестицидов в Китае существует разрыв по сравнению с развитыми странами. Согласно статистике из более чем 300 распространенных пестицидов более 40 были самостоятельно разработаны китайскими компаниями. Эффективность лишь около 10 китайских пестицидов считается удовлетворительной. Несмотря на то что технический уровень создания пестицидов в Китае пока невысок, в последние годы произошел большой прогресс в технологическом качестве

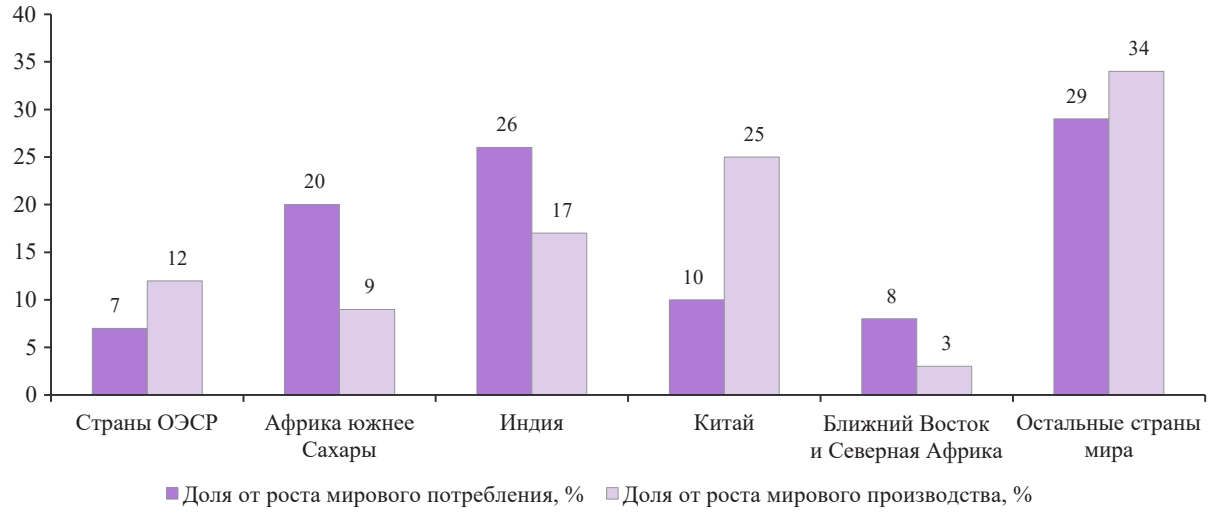


Рисунок 1. Рост производства и потребления продовольствия (продукция АПК) по макрорегионам мира до 2031 г.

Figure 1. Growth prospects in food production and agricultural consumption in global macro-regions by 2031

Таблица 4. Перечень новых действующих веществ, утвержденных Техническим комитетом ИСО, по общепринятым названиям пестицидов

Table 4. New active ingredients approved by the ISO Technical Committee on common names of pesticides

Общепринятое название	Разработчик	Назначение
Флуфеноксимацил (*Flufenoximacil*)	KingAgroot Chemical	Фенилурациловый гербицид-ингибитор PPO
Флухлораминопир (*Fluchloraminopyr*)	KingAgroot Chemical	Синтетический гормональный гербицид нового поколения на основе пиридилоксикарбоновой кислоты
Флусульфинам (*Flusulfinam*)	KingAgroot Chemical	Амидный гербицид-ингибитор HPPD для риса
Броклозон (*Broclozone*)	KingAgroot Chemical	Гербицид из химического класса изоксазолидинонов
Пирифлубензоксим (*Pyriflubenzoxim*)	Jiangsu Agrochem Laboratory Co	Пиримидинилбензоатный гербицид
Иптриазопирид (*Iptriazopyrid*)	Nissan Chemical	Амидный гербицид
Индолауксипир (*Indolauxipyr*)	Corteva Agrisciences	Гербицид на основе пиколиновой кислоты
Икафолин (*Icafolin*)	Bayer	Изоксазольный гербицид
Спиробудифен (*Spirobudifen*)	Zhejiang Udragon Bioscience	Инсектицид/акарицид тетроновой кислоты
Тиорантранилипрол (*Thiorantraniliprole*)	Zhejiang Udragon Bioscience	Пиридилпиразоловый инсектицид из класса диамидов
Трифлуенфуронат (*Trifluenfuronate*)	Shandong United Pesticide Industry	Акарицид и нематицид на основе фторалкенила
Флупироксистробин (*Flupyroxystrobin*)	Syngenta	Метоксиакрилатный инсектицид
Ледпрона (*Ledprona*)	GreenLight	Двухцепочечный РНК-биоинсектицид с новым механизмом действия против колорадского жука

создания препаратов. Китай настроен достичь передового мирового уровня агрохимической промышленности [46, 50–52].

Наряду с развитием химической промышленности, в последние годы Китай следит за химическим загрязнением и безопасностью. Согласно «14-му пятилетнему плану» для пестицидной промышленности страна продолжит оптимизацию структуры производства, активизирует усилия по выводу производственных мощностей с высокими уровнями риска и загрязнения и будет контролировать избыточные мощности [52].

Индийский рынок химических средств защиты растений. По данным Международного валютного фонда, мировая экономика выросла на 6,1 % в 2021 г., в странах с развитой экономикой рост составил 5,2 %, а в странах с формирующимся рынком и развивающихся странах – 6,8 %. Индия лидирует в мировом росте с его темпами 8,9 %. Согласно изданию «The Hindu» Индия опередила пятую по величине экономику мира – Великобританию – и может стать третьей по величине экономикой к 2028–2030 гг. [53, 54]. Индия занимает второе место после Китая по объему сельскохозяйственного производства, который, наряду со смежными секторами, вносит вклад в валовой внутренний продукт страны, оценивающийся в 20 % [55].

Агрохимическая промышленность Индии обладает мощной производственной базой. Производство и экспорт индийских агрохимикатов увеличились за последнее десятилетие; ожидается, что эта тенденция сохранится. Индия использует почти 60 000 т пестицидов и производит сельскохозяйственной продукции на $481 млрд, по сравнению со странами Европейского союза, использующими 250 тыс. т пестицидов и производящими сельскохозяйственной продукции на сумму менее $200 млрд, хотя в ЕС больше земель, чем в Индии. Недавно Индия была четвертым по величине производителем агрохимикатов в мире после США, Японии и Китая. По данным Phillips McDougal, в 2019 г. рынок агрохимии Индии оценивался в $2,8 млрд [51]. По данным Совета по содействию экспорту основных химических веществ, косметики и красителей (CHEMEXCIL) при Министерстве торговли и промышленности Правительства Индии, рынок пестицидов в стране достиг уровня $6,7 млрд. Ожидается, что объем производства пестицидов в Индии к 2025 г. достигнет $8,1 млрд [55].

Производители индийских пестицидов считают, что при поддержке правительства они смогут еще больше нарастить выпуск средств защиты растений, в том числе на экспорт. По сообщению агропромышленного портала Агро XXI, индийские производители пестицидов ждут поддержку государства и планируют достичь $11 млрд к 2033 г. [56].

Индийские агрохимические компании сосредоточились на экспорте из-за сезонного внутреннего спроса и растущего потенциала на внешних рынках. Низкозатратное производство, наличие технически

подготовленной рабочей силы, налоговые льготы, конкурентные цены и налаженное производство пестицидов-дженериков являются мощным драйвером увеличения экспорта индийских пестицидов. По величине экспорта агрохимикатов Индия является вторым поставщиком в мире, обогнав США и уступая только Китаю. За последние пять лет агрохимическая отрасль почти удвоилась с $2,6 до $5,5 млрд. Более 150 стран уже являются клиентами, которым Индия поставляет средства защиты растений. Около 5,5 % оборота ведущих индийских агрохимических компаний тратится на НИОКР, поэтому стоит ожидать получения большего количества патентов. Об этом сообщил старший советник Федерации растениеводства Индии (CCFI) H. Mehta в докладе на агрохимическом форуме в Нью Дели [55]. Согласно Совету по содействию экспорту основных химических веществ, косметики и красителей (CHEMEXCIL) экспорт агрохимикатов в 2021 г. оценивался в $3,9 млрд, увеличившись в среднем на 16 % в период с 2016 по 2021 гг.; он продолжит свой рост в ближайшие годы. Индия экспортирует химические средства защиты растений во многие страны, в том числе в РФ, в объеме около 6 тыс. т (табл. 5). Ожидается, что объемы экспорта в Россию будут увеличиваться.

Таблица 5. Основные страны экспорта химических средств защиты растений из Индии (2022 г.)

Table 5. India's top exporters of pesticides, 2022

Страна	Количество, тыс. т	Млрд. рупий
Бразилия	129,94	92,60
США	85,58	81,99
Япония	4,77	13,51
Вьетнам	36,03	10,29
Аргентина	12,03	9,27
Российская Федерация	5,97	3,87
Польша	3,94	2,36
Испания	4,06	2,00
Италия	4,74	1,80

Все больше индийских агрохимических компаний проводят открытую стратегию посредством прямого сотрудничества, стремясь расти как глобальный игрок со своим присутствием на международных рынках. Индийские компании расширяют дистрибьюторские сети, создают свои бренды, внедряют инновации в технологические процессы синтеза действующих веществ, расширяют линейку инновационных препаратов и успешно регистрируют постпатентные молекулы. Это дает преимущество в продаже химических средств защиты растений по конкурентоспособным ценам [54, 57].

Сегодня налажена логистика доставки пестицидов из Индии в Россию (рис. 2). Появились прямые маршруты с перегрузом в Турции: Индия (Мундра,

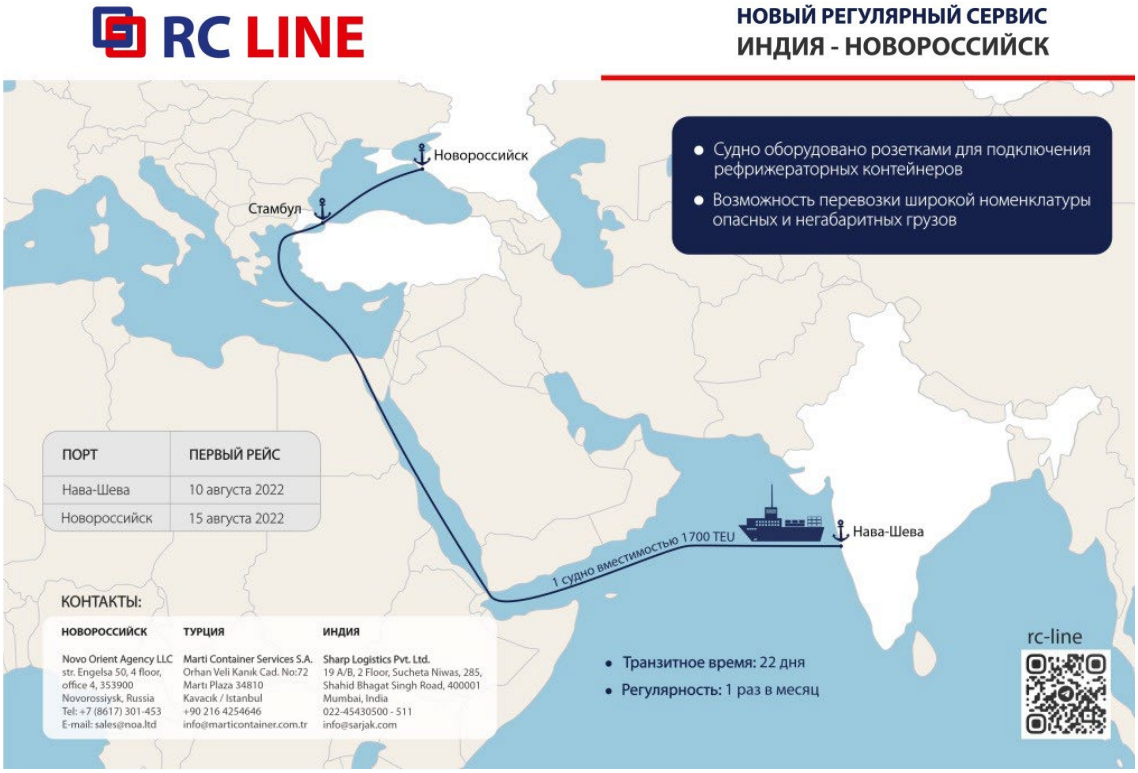


Рисунок 2. Логистика доставки пестицидов из Индии в Россию

Figure 2. Logistics of pesticide traffic from India to Russia

Нава-Шева) – порт Новороссийск; Индия (Мундра, Нава-Шева) – порт Санкт-Петербург. Перевозку химических средств защиты растений по данным маршрутам на текущий момент осуществляют операторы RUSCON ТРАНСКОНТЕЙНЕР, Silmar Group и Hub&-links. Среднее время в пути от порта в Индии до порта в России составило 30 дней, минимальный срок доставки пестицидов до порта Новороссийск – 14 дней.

Российский рынок химических средств защиты растений. В СССР существовала мощная химическая промышленность. По объемам производства пестицидов СССР уступал только США. На территории СССР производили особо опасные хлорорганические и фосфорорганические вещества. Производимые объемы позволяли удовлетворить около 65 % потребности СССР, а остальные объемы пестицидов импортировали из стран Совета экономической взаимопомощи (СЭВ; Болгария, Венгрия и Югославия), Европы и США. С распадом СССР на территории России остались промышленные предприятия, оторванные от поставщиков первичных компонентов и сырья, были утрачены кооперационные связи со странами СЭВ, финансовые возможности для приобретения сырья, оборудования и ноу-хау оказались исчерпанными. Если в 1991 г. выпуск пестицидов в России составил 156,5 тыс. т, то в 1997 г. он упал до 27 тыс. т, а 1998 г. до 9,8 тыс. т. Стремление полностью закупать химические средства защиты растений за рубежом привело к тому, что стоимость препаратов на внутреннем рынке резко возросла [2, 58].

Ежегодно на посевах сельскохозяйственных культур в Российской Федерации используются пестициды на площади 100–101 млн га. Для фитосанитарного оздоровления и стабилизации агроценозов ежегодно необходимо защищать 120–140 млн га [59]. За 2018–2022 гг. на территории страны увеличились посевы рапса, подсолнечника и сои. По данным Министерства сельского хозяйства РФ, посевные площади рапса выросли на 48,5 %, подсолнечника – на 24 %, сои – на 18,9 %. Увеличение посевных площадей стимулирует спрос на средства защиты растений. В России существует потенциал роста применения пестицидов, поскольку около 30 % посевов остаются незащищенными [60, 61]. В 2022 г. основной причиной роста рынка пестицидов стало увеличение объема пахотных земель за счет новых субъектов Российской Федерации [27].

По данным международной информационной Группы «Интерфакс», в Россию 54 компании ввозят 635 препаратов (291 гербицид, 148 инсектицида, 194 фунгицида и 2 прочих средства защиты растений) из 28 стран. Российские производители выпускают 757 препаратов-аналогов [61].

По сообщению директора департамента химической промышленности Минпромторга А. Смирнова пресс-центру «Парламентской газеты», выпуском химических средств защиты растений в России занимаются 10 крупных предприятий, суммарная мощность производства которых на начало 2023 г. составила 380 тыс. т. Объем потребления средств агрохимии на российском рынке в 2022 г. составил 230 тыс. т, из которых 176 тыс. т произведено российскими предприятиями на собственных мощностях и импортировано 71,2 тыс. т. В 2022 г. было экспортировано порядка 17,5 тыс. т [62]. Рынок химических средств защиты растений в России считается одним из самых быстрорастущих в мире. За период с 2010 по 2020 гг. он вырос в 4 раза, показав подъем с 56 % в 2010 г. до 72 % в 2020 г. По итогам 2020 г. потребление средств защиты растений всех видов составило 187,9 тыс. т, из которых прямой импорт составил 32 %. По оценкам BusinesStat, за 2018–2022 гг. продажи пестицидов в России увеличились на 40 %: со 154 до 216 тыс. т [59]. По данным Минпромторга, в 2023 г. общий объем рынка пестицидов оценивался в 230 тыс. т. Импорт средств защиты растений в Россию составил 30 % от общего объема рынка пестицидов [62, 63].

На российском рынке химических средств защиты растений продолжается замещение импортной продукции. В 2022 г. доля отечественных пестицидов составила 66 %, увеличившись с 2017 г. на 57 %. Еще около 16 % продукции средств защиты растений поставляется на рынок по толлинговым схемам. По сообщениям спикеров конференции «Агротренды России», в 2022 г. отечественные химические предприятия произвели 118,8 тыс. т, а в 2023 г. 149,3 тыс. т химических средств защиты растений [64–66]. Согласно исследованиям, проведенным аналитической организацией «Агентство Плодородия», в стоимостном выражении (рис. 3) доля российских компаний на рынке химических средств защиты растений в 2022 г. составила 83 %, доля мировых компаний – 17 % [27, 28, 42].

По объемам импорта химических средств защиты растений в 2022 г. лидирующую позицию занимает



Рисунок 3. Соотношение российского производства и импорта химических средств защиты растений

Figure 3. Russian production vs. import of chemical pesticides

Китай, на долю которого приходится 50 % от всего импорта (табл. 6). На основные страны импортированных в Россию химических средств защиты растений в 2022 г. приходилось 73,2 тыс. т на сумму $891,3 млн [27].

По данным Российского союза производителей химических средств защиты растений, ежегодный объем импорта пестицидов составляет порядка 65–70 тыс. т – это 30 % от общего объема рынка пестицидов (рис. 4).

Кризисные экономические процессы и логистические проблемы в 2022 г. не привели к снижению продаж химических средств защиты растений на территории РФ. Отечественные производители пестицидов совместно с Министерством сельского хозяйства России приняли необходимые меры для своевременного обеспечения аграриев всей необходимой продукцией.

По сообщению представителя РСП ХСЗР на конференции «Агротренды России», состоявшейся 1 декабря 2023 г. в Москве, в период с 2010 по 2023 гг. Российским союзом производителей химических средств защиты растений были реализованы следующие проекты:

1. Рост объемов внутреннего производства средств защиты растений в 5 раз с 2010 г.;
2. Строительство 4 новых заводов: Август-Алабуга – на 50 тыс. т, Шанс Энтерпрайз – на 50 тыс. тонн, Агрусхим Алабуга – на 20 тыс. т, Сингента – на 4 тыс. т.;
3. Расширение производственных мощностей остальными российскими производителями на 116 тыс. т.;
4. Строительство крупных научно-исследовательских центров российскими компаниями;
5. Создание кафедр по защите растений в российских профильных вузах;
6. АО Фирмой «Август» построен завод по производству действующих веществ в китайской провинции Хубэй;

Таблица 6. Основные страны происхождения по объемам импорта в Россию химических средств защиты растений

Table 6. Key exporters of pesticides to Russia

Страна	Объем импорта, тыс. т				Стоимость импорта, тыс. долл.			
	2019 г.	2020 г.	2021 г.	2022 г.	2019 г.	2020 г.	2021 г.	2022 г.
Китай	26,7	29,9	29,4	39,0	121 360	127 406	143 687	271 144
Франция	8,4	9,7	8,1	6,7	126 627	179 621	143 582	132 213
Германия	5,9	7,0	6,4	6,5	100 879	77 847	83 312	124 738
Испания	4,7	1,5	2,0	4,7	54 588	29 578	31 364	142 492
Венгрия	2,5	2,6	2,9	4,5	25 695	30 626	35 775	93 637
Польша	2,3	3,5	3,3	3,7	19 371	35 876	35 743	42 528
Израиль	2,5	2,4	2,4	2,8	24 150	19 663	24 348	32 313
Индия	1,5	2,8	2,3	2,8	8050	19 958	12 185	32 313
Бельгия	2,0	0,5	0,8	1,2	11 554	3549	11 345	15 776
Чехия	0,2	0,8	0,4	1,0	506	1396	1112	1995
Дания	1,9	1,6	0,4	0,3	12 682	10 327	4345	2150
Швейцария	2,2	1,6	1,9	0,1	39 744	24 717	26 354	1
Итого	60,8	63,9	60,4	73,2	545 196	560 564	553 152	891 301
Доля от импорта, %	94	92	86	93	94	89	83	91



Рисунок 4. Объем потребления химических средств защиты растений в Российской Федерации в 2022 году, тыс. т

Figure 4. Pesticide consumption in the Russian Federation in 2022, thousand tons

7. АО «Щелково Агрохим» начато строительство первого завода на территории России по производству действующих веществ.

Согласно прогнозу экспертов Торгово-промышленной палаты России и Агентства Плодородия объем российского рынка готовых препаративных форм к 2032 г. достигнет 252 млрд рублей. Однако речь идет не о полном цикле производства пестицидов, а о выпуске препаративных форм на основе закупаемых за границей действующих веществ [2].

Действующие вещества для производства пестицидов. В РФ почти полностью отсутствуют предприятия по производству действующих веществ средств защиты растений. Основная доля действующих веществ и рецептурных компонентов для производства пестицидов ввозится из Китая, Индии, Германии, Бельгии и других стран. Это увеличивает их себестоимость и делает российских производителей зависимыми от импорта.

Мировое производство действующих веществ пестицидных препаратов в 60-х гг. XX века насчитывало около 100 молекул, к началу текущего столетия их число увеличилось до 500, на основе которых производилось до десяти тысяч различных препаратов. В последние годы происходит удорожание получения новых молекул и снижение скорости внедрения действующих веществ и их регистрации. Суммарная стоимость вывода на рынок нового продукта в конце 40-х гг. составляла $1,2–1,5 млн, к 70-м гг. эта цифра достигла $4–5 млн. Сегодня стоимость появления на рынке нового препарата стоит компании около $300 млн [65–67]. В 2022 г. только 4 ведущих агрохимических корпорации вывели на рынок шесть новых действующих веществ, получив первую в мире регистрацию, в том числе 1 фунгицид, 2 инсектицида и 3 гербицида. Средний срок выведения на рынок нового действующего вещества составляет более 11 лет [27].

Производство действующих веществ на территории России – залог продовольственной безопасности страны. Однако высокоэффективные современные действующие вещества в России не производятся, импорт составляет 100 %. На конференции «Агротренды России» в 2023 г. были продемонстрированы данные по ввозу действующих веществ пестицидов в стране, представленные в таблице 7 [43].

«Щелково Агрохим» – лидирующая компания-производитель средств защиты растений – приводит следующие данные по структуре закупки импортных действующих веществ для производства пестицидов в РФ (табл. 8). Объем ввозимых действующих веществ пестицидов позволяет производить более 600 различных препаратов.

Поскольку действующие вещества пестицидов приходится закупать за рубежом, то одной из основных стратегических задач российской химической промышленности и РСП ХСЗР является строительство заводов по их синтезу. Производство в России действующих веществ только для внутреннего потребления будет неэффективно. Поэтому необходимо ориентироваться на производство не только для внутренних потребностей, но и для мирового рынка. Производство действующих веществ пестицидов с целевым рынком потребления только в РФ будет иметь большую себестоимость по сравнению с китайскими и индийскими аналогами. Поэтому данный вопрос требует детальной проработки. Для создания собственного производства действующих веществ необходимы государственные меры поддержки [27, 48–50].

Таблица 7. Ввоз действующих веществ пестицидов в РФ с 2017 по 2023 гг.

Table 7. Import of active pesticide ingredients to the Russian Federation, 2017–2023

Год / Параметры	2017 г.	2018 г.	2019 г.	2020 г.	2021 г.	2022 г.	2023 г.
Объем, тыс. т	40,0	52,0	63,3	64,1	71,8	79,6	86,0
Стоимость, млн долл.	375,0	375,3	559,8	549,1	746,9	1112,8	779,0

Таблица 8. Структура закупки импортных действующих веществ пестицидов предприятиями Российского союза производителей химических средств защиты растений (2021 г.)

Table 8. Purchase of imported active pesticide ingredients by the Russian Union of Pesticide Producers, 2021

№	Группа	Количество наименований	Объем закупки (млн долл.), %
1	Гербициды	87	51,5
2	Инсектициды	36	21,3
3	Фунгициды и протравители	43	25,4
4	Десиканты	1	0,6
5	Регуляторы роста	2	1,2
	Итого	169	746,9 млн долл.

Источник: 14-я Международная аграрная конференция «Где маржа», 9–10.02.2023 г.

Source: 14th International Conference "Where the Margin Is", Feb 9–10, 2023

Контроль за обращением пестицидов и агрохимикатов в РФ. С 29 июня 2021 г. Россельхознадзор получил право осуществлять контроль за оборотом пестицидов и химикатов, что привело к внедрению информационной системы прослеживаемости химических препаратов ФГИС «Сатурн», контроля за соблюдением требований к пестицидам и агрохимикатам при ввозе на территорию РФ и регламентов применения пестицидов и агрохимикатов в производстве сельскохозяйственной продукции.

1 сентября 2022 г. вступило в силу Постановление Правительства РФ от 08.07.1997 № 828 «О Федеральной государственной информационной системе прослеживаемости пестицидов и агрохимикатов». Информационная система получила название ФГИС «Сатурн». Она предназначена для обеспечения учета партий пестицидов и агрохимикатов при их обращении (ввозе на территорию РФ, производстве (изготовлении), хранении, перевозке (транспортировке), применении, реализации, обезвреживании, утилизации, уничтожении и захоронении) и осуществления анализа, обработки представленных в нее сведений и контроля за достоверностью таких сведений и информации. С сентября 2022 г. субъекты, задействованные в обороте пестицидов и агрохимикатов, должны быть зарегистрированы в системе Цербер, через которую необходимо авторизоваться в системе Сатурн. По состоянию на 25 декабря 2023 г. в ФГИС «Сатурн» зарегистрировано более 63,7 тыс. хозяйствующих субъектов, которые имеют во владении и пользовании более 1 млн поднадзорных объектов. Поскольку еще не все зарегистрированы в данной системе, Россельхознадзор продолжает профилактическую работу по выявлению хозяйствующих субъектов, которые осуществляют обращение пестицидов и агрохимикатов без регистрации в системе (Постановление Правительства РФ от 07.05.2022 № 828) [68].

По данным Россельхознадзора, в 2023 г. при ввозе на территорию России осуществлен контроль 59 тыс. т пестицидов и 12 тыс. т агрохимикатов. Основными поставщиками являются Китай, Франция и Германия [68].

Для эффективной работы ФГИС «Сатурн» необходимо совершенствование порядка государственной регистрации пестицидов и агрохимикатов. Например, в государственном каталоге пестицидов и агрохимикатов, разрешенных для применения на территории РФ, практически отсутствуют препараты для применения на ряде овощных, плодовых, лекарственных и других культур, которые имеют небольшие площади, но присутствуют на продовольственных рынках и полках магазинов. Например, почти нет препаратов, зарегистрированных на капусте краснокочанной и пекинской, салате айсберг, сельдерее, луке-порее и др. Выращивание сельскохозяйственных растений в производственных масштабах невозможно без применения средств защиты растений. Отсутствие зарегистрированных препаратов на тех или иных культурах приводит к нарушению регламентов применения, а также использованию незарегистрированных в РФ пестицидов, включая высоко опасные для человека и окружающей среды. Без регистрации пестицидов невозможен эффективный контроль их остаточных количеств в продукции, что может негативно отражаться на здоровье населения. В Республике Беларусь регистрация химических средств защиты растений есть даже на таких минорных культурах, как капуста савойская, краснокочанная, голубика, клюква крупноплодная, мак масличный и др. [69]. Стоимость регистрации пестицидов в Беларуси ниже, а сроки получения свидетельства о государственной регистрации короче, чем в РФ. Это позволяет белорусским аграриям быстрее получать доступ к новым средствам защиты растений и внедрять современные технологии в сельскохозяйственное производство. В большинстве зарубежных стран химические средства защиты растений имеют регистрацию и гигиенические нормативы с допустимым количеством содержания в них пестицидов практически на всех культурах, возделываемых фермерами. В Канаде популярный в РФ инсектицид Кораген на основе хлорантранилипрола зарегистрирован более чем на 100 различных культурах [70]. Этот препарат имеет низкий класс опасности как для человека, так для и пчел. Согласно государственному каталогу пестицидов и агрохимикатов, зарегистрированных на территории РФ, в России данный инсектицид имеет регистрацию лишь на 8 культурах, что ограничивает эколого-технологические преимущества для аграриев [71].

Квотирование импорта химических средств защиты растений. Квотирование ввоза средств защиты растений – новая мера поддержки импортозамещения. Идея квотирования соответствует интересам не только производителей средств защиты растений, но и страны в целом. Эта мера будет способствовать достижению целевых показателей по обеспечению 90 % российских аграриев отечественными препаратами. В мае 2023 г. Совет Федерации рекомендовал правительству ввести квоты на импорт пестицидов. Согласно проекту постановления правительства квоту на ввоз средств защиты растений в РФ планировалось установить в первом полугодии 2024 г. на уровне 16,748 тыс. т. В сентябре Минпромторгом были проведены консультации с производителями и потребителями химических средств защиты растений для выработки согласованного перечня препаратов для квотирования и озвучены следующие квоты: период действия – с 1 января по 30 июня 2024 г., объем – 15 тыс. т [61, 63, 64]. Однако эксперты рынка и аграрии считают введение импортных квот нецелесообразным и контрпродуктивным. Поскольку не все препараты имеют аналоги в России, то необходимо принять решение, которое обеспечит аграриев необходимыми средствами для эффективной защиты урожая от вредных объектов. В мае президент РФ Владимир Путин на встрече с «Деловой Россией» заявил, что Россия рассмотрит вариант введения квоты на зарубежные средства защиты растений, чтобы поддер-

жать отечественных производителей, соблюдая нормы ВТО. В начале октября замминистра сельского хозяйства Андрей Разин сообщил, что Минсельхоз не поддержит планы по введению квот на импорт средств агрохимии, аналогов которых в России нет. Минпромторг предлагает распространить механизм квотирования ввоза химических средств защиты растений на всю территорию Евразийского экономического союза. В случае утверждения решения ограничения будут поэтапными – не более чем на 15 % ежегодно до 2030 г. Многие считают, что квотирование ввоза средств защиты растений на всей территории ЕАЭС – оптимальное решение, поскольку в трех из пяти стран – членов союза есть производства пестицидов: три производства средств защиты растений есть в Белоруссии и Казахстане, 10 – в России. Таким образом, на территории ЕАЭС работают 16 производителей пестицидов, их общая мощность «раза в полтора» превышает общее потребление стран, причем ежегодно производство растет. Информация о квотах обсуждается экспертами и участниками рынка химических средств защиты растений. У ряда экспертов эта мера вызывает негативные эмоции, другие уверены, что это поможет отечественному производству. Другие участники рынка химических средств защиты растений выражают беспокойство о том, что квотирование ввоза средств защиты растений может привести к росту цен на препараты и ограничить поставки действующих веществ. Будем надеяться, что правительство РФ и ведомства, ответственные за финансовую и материально-техническую поддержку аграриев, примут меры, которые помогут обеспечить продовольственную безопасность и независимость страны.

Выводы

Многие эксперты выражают мнение о том, что введение квот на ввоз готовых препаративных форм пестицидов может привести к росту цен на препараты и ограничить поставки действующих веществ российским производителям химических средств защиты растений. Поскольку локальное производство пестицидов в России полностью зависит от импортных веществ, то на данном этапе к введению квот нужен стратегически и экономически обоснованный подход. В этой связи нужно развивать научное-производственное сотрудничество и открывать совместные предприятия со странами, которые обладают технологиями синтеза действующих веществ и производят рецептурные компоненты, входящие в состав пестицидов.

Несмотря на возрастающие риски вложения капиталов в производство и регистрацию пестицидов, а также их негативное влияние на человека и окружающую среду, химические средства защиты растений будут востребованными сельскохозяйственными предприятиями во всем мире многие годы. В отношении пестицидов высокого класса опасности необходимо принять соответствующие меры регулирования, чтобы своевременно уменьшить риск их отрицательного влияния на здоровье населения и окружающую среду. Например, следует запретить применение в Российской Федерации имидаклоприда, который является чрезвычайно опасным для пчел, а также запрещен в странах ЕС с 2020 г.

Наша планета переживает тяжелый экологический кризис. Поэтому необходимо разрабатывать безопасные препараты и создавать новые технологии, способные снизить загрязнение природы и уменьшить токсическое воздействие на человека и полезных насекомых. Альтернативой химическим средствам защиты растений являются биологические, которые сегодня активно развиваются. Биологические средства не наносят вреда природе и здоровью человека и могут обеспечить эффективную защиту растений. Некоторые страны сокращают количество полей, обрабатываемых химическими пестицидами, и переводят часть площадей, занятых под сельхозкультурами, на органическое земледелие. Таким образом, намечена общемировая тенденция более активного использования биологических методов защиты растений и расширения спроса населения на органические продукты питания (Федеральный закон от 03.08.2018 № 280-ФЗ) [72, 73].

Средства защиты растений играют важную роль в стабильном обеспечении человека и животных сельскохозяйственной продукцией и продуктами питания. Основными катализаторами роста рынка пестицидов являются увеличение численности населения и посевных площадей, рост цен на действующие вещества, изменение метеорологических и геополитических условий, рост численности вредителей и болезней, влияющих на урожайность. Средства защиты растений на протяжении многих десятилетий остаются востребованными сельскохозяйственными предприятиями и фермерами, как в мире, так и в России, несмотря на возрастающие риски вложения капиталов в их производство при сохраняющейся тенденции роста цен и негативного влияния пестицидов на человека и окружающую среду.

Без разумного использования агрохимических препаратов невозможно избежать потерь урожайности и добиться высокого качества продукции. Анализ литературных источников свидетельствует о том, что при массовом распространении вредителей, болезней и сорняков потери урожая без применения средств защиты растений могут превышать 80 %. В отдельных случаях урожай сельскохозяйственных культур может быть полностью уничтожен вредными организмами. В денежном выражении потери только от болезней растений и вредителей могут обходиться мировой экономике в сумму около $300 млрд.

В случае дефицита химических средств защиты растений в России могут уменьшиться валовые сборы сельскохозяйственных культур и ухудшиться качество урожая, что негативно отразится на внутреннем потреблении и приведет к сокращению экспортного потенциала продукции сельского хозяйства. Чтобы не допустить недостатка средств защиты растений и сбоя их поставок, российским аграриям в разгар сельскохозяйственных

работ необходимо выработать решение по введению квот на ввоз импортных пестицидов. Для этого необходимо учитывать отсутствие на территории РФ производственных мощностей по синтезу действующих веществ пестицидов и наличие долгосрочных патентов у иностранных поставщиков на ряд уникальных препаратов, обладающих оптимальным сочетанием биологической эффективности и безопасности для человека и окружающей среды. В связи с этим нужно продолжать сотрудничество с такими странами, как Индия и Китай, которые обладают высокотехнологичными производственными мощностями по синтезу действующих веществ и рецептурных компонентов, входящих в состав химических средств защиты растений. На некоторые действующие вещества целесообразно наладить синтез в России. Однако этот вопрос требует тщательного анализа.

По прогнозам ведущих аналитиков, в 2024 г. российские аграрии могут собрать от 92–95 млн т пшеницы и около 142 млн т зерновых культур в целом. Экспортный потенциал оценивается примерно в 70 млн т. Федеральная служба по гидрометеорологии и мониторингу окружающей среды также дает благоприятный прогноз погоды для произрастания сельскохозяйственных культур на всей территории России. На складах сейчас находятся достаточные объемы химических препаратов. Исходя из этого, можно предположить, что объемы применения средств защиты растений в текущем году будут на уровне 2023 г. Однако из-за низких цен на зерновые культуры продажи химических средств защиты растений в денежном выражении сократятся, т. к. химические компании вынуждены продавать препараты по более низким ценам.

Несмотря на высокую эффективность и растущий из года в год объем применения химических средств защиты растений, в некоторых странах вводят ограничения использования или полный запрет обращения пестицидов высокого класса опасности. Однако некоторые пестициды (например, высоко опасные для пчел имидаклоприд, фипронил и др.), запрещенные в ряде стран, продолжают применять в России. В связи с этим российские ведомства, ответственные за государственную регистрацию пестицидов, должны обратить на это внимание и принять соответствующие меры, чтобы своевременно уменьшить риск отрицательного влияния пестицидов на здоровье населения нашей страны и негативного воздействия на окружающую среду.

Критерии авторства

А. И. Тареев: концептуализация, курирование данных, подготовка черновика рукописи, редактирование рукописи. А. В. Березнов: научное руководство исследованием и концептуализация. В. В. Смирнов: научное руководство исследованием, концептуализация и разработка методологии исследования. А. А. Тареева: визуализация, валидация данных и программное обеспечение. С. С. Кислая: проведение поискового исследования и валидация данных.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Благодарности

Авторы выражают благодарность менеджеру по маркетингу ООО «Белин» (Российское подразделение ГК «Париджат Индастриз», Индия) С. Свами за консультативную помощь.

Contribution

A.I. Tareev developed the research concept, provided data curation, drafted the manuscript, and proofred the final version. A.V. Bereznov supervised the research and developed the concept. V.V. Smirnov supervised the research, developed the concept, and outlined the methodology. A.A. Tareeva visualized and validated the data obtained, worked with the software. S.S. Kislaya obtained the research material and provided data validation.

Conflict of interest

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

Acknowledgments

The authors express their gratitude to Sahil Swami, Marketing Manager at Belin LLC, Moscow, Russia, for consultative assistance.

References/Список литературы

1. Tarakanov GI, Mukhin VD. Vegetable farming. Moscow: KolosS; 2003. 472 p. (In Russ.). [Тараканов Г. И., Мухин В. Д. Овощеводство. М.: КолосС, 2003. 472 с.].

2. Possibilities of producing active pesticide substances in the Russian Federation [Internet]. [cited 2023 Nov 20]. Available from: https://fedregpalata.ru/news/o-vozmozhnostyakh-sozdaniya-proizvodstv-deistvuyushchikh-veshchestv-dlya-preparativnikh-form-pestitsidov-v-rossiiskoi-federatsii

3. Azarov OI, Tsoy VG, Chekmarev PA, Yushkov AYu. Chemical plant protection products: global and Russian market. Moscow: Leoving; 2018. 112 p. (In Russ.). [Химические средства защиты растений: мировой и российский рынок / О. И. Азаров [и др.] // М.: Леовинг, 2018. 112 с.].

4. Zakharenko VA. Scientific support of the production, market, and sales of pesticides in the agrarian sector of Russia Federation. Agrohimia. 2014;(4):3–19. (In Russ.). [Захаренко В. А. Научное обеспечение производства, рынка и реализации пестицидов в аграрном секторе Российской Федерации // Агрохимия. 2014. № 4. С. 3–19.]. https://www.elibrary.ru/SEEJEF

5. Dolzhenko VI, Burkova LA. Ecological basis for the formation of a modern range of plant protection products. Agrochemical Herald. 2001;(5):5–6. (In Russ.). [Долженко В. И., Буркова Л. А. Экологическая основа формирования современного ассортимента в средстве защиты растений // Агрохимия. 2001. № 5. С. 5–6.]. https://www.elibrary.ru/TWEXUB

6. Dolzhenko TV. Biologization and environmental optimization of pesticides. Dr. Sci. Biol. diss. Moscow: Russian Timiryazev State Agrarian University; 2017. 301 p. (In Russ.). [Долженко Т. В. Биологизация и экологическая оптимизация ассортимента средств защиты сельскохозяйственных культур от вредителей: дис. … д-ра био. наук: 06.01.07. М., 2017. 301 с.]. https://www.elibrary.ru/VWRJQY

7. Glazko VI. Diseases of cultural plants and development of agrarian civilization. Russian Journal of Agricultural and Socio-Economic Sciences. 2016;56(8):74–84. (In Russ.). https://doi.org/10.18551/rjoas.2016-08.11; https://www.elibrary.ru/WIBLYD

8. Moysa AYu. History of late blight studyng. Proceedings of the XII International Student Scientific Conference: Student Scientific Forum; 2020; Moscow. Moscow: Izdatel′skiy dom Akademii Estestvoznaniya; 2020. (In Russ.). [Мойса А. Ю. История изучения фитофтороза картофеля // Материалы XII Международной студенческой научной конференции «Студенческий научный форум». М., 2020.].

9. D′yakov YuT. Late blight: global and domestic issues. Nature. 2002;(1):33–39. (In Russ.). [Дьяков Ю. Т. Фитофтороз – глобальные и внутрироссийские проблемы // Природа. 2002. № 1. С. 33–39.].

10. Zakutnova VI, Pilipenko NV, Zakutnova EB. History of phytophthora examine closed ground in world practice and Russia. Astrakhan Bulletin of Ecological Education. 2013;24(2):137–141. (In Russ.). [Закутнова В. И., Пилипенко Н. В., Закутнова Е. Б. История изучения фитофторы закрытого грунта в мировой практике и России // Астраханский вестник экологического образования. 2013. Т. 24. № 2. С. 137–141.]. https://www.elibrary.ru/QBZQSD

11. Filippov AV. Late blight of potatoes. Plant Protection and Quarantine. 2012;(5):61–88. [Филиппов А. В. Фитофтороз картофеля // Защита и карантин растений. 2012. № 5. С. 61–88.]. https://www.elibrary.ru/SJTEFT

12. Sklyarenko VM, Ochkurova OYu, Shcherbak GV, Isaenko OYa, Il′chenko AP. 100 greatest disasters. OMIKO; 2013. 511 p. (In Russ.). [100 знаменитых катастроф / В. М. Скляренко [и др.] // OMIKO, 2013. 511 с.].

13. Gavrilova NG. Nigerian agriculture after the pandemic: Priorities for supporting small farmers. Nikonov Readings. 2023;(28):312–318. (In Russ.). [Гаврилова Н. Г. Сельское хозяйство Нигерии в постпандемическом мире: приоритетные направления поддержки мелких фермеров // Никоновские чтения. 2023. № 28. С. 312–318.]. https://www.elibrary.ru/LUFNRM

14. Drought and locust plague leave Niger on the brink of famine [Internet]. [cited 2023 Nov 20]. Available from: https://www.independent.co.uk/news/world/africa/drought-and-locust-plague-leave-niger-on-the-brink-of-famine-300323.html

15. UN warns of “major shock” as Africa locust outbreak spreads [Internet]. [cited 2023 Nov 20]. Available from: https://www.seattletimes.com/nation-world/nation/un-warns-of-major-shock-as-africa-locust-outbreak-spreads

16. Locusts are destroying crops around the world. To combat the pest, scientists propose using AI, backpack vacuum cleaners, and bugs [Internet]. [cited 2023 Nov 20]. Available from: https://www.mn.ru/smart/sarancha-unichtozhaet-posevy-po-vsemu-miru-dlya-borby-s-vreditelem-uchenye-predlagayut-ispolzovat-ii-ryukzaki-pylesosy-i-zhukov

17. UN forecasts: global population to reach 10 billion by 2050 [Internet]. [cited 2023 Nov 20]. Available from: https://spbvedomosti.ru/news/country_and_world/prognozy-oon-k-2050-godu-naselenie-zemli-uvelichitsya-do-10-mlrd-chelovek

18. Deniskina NF, Gasparyan ShV, Dyykanova ME, Levshin AG, Gasparyan IN. Protecting crops from pests during growth and storage. Moscow: MEhSKh; 2021. 108 p. (In Russ.). [Защита сельскохозяйственных культур от вредных организмов в периоды ухода и хранения / Н. Ф. Денискина [и др.]. М.: Редакция журнала «Механизация и электрификация сельского хозяйства», 2021. 108 с.]. https://www.elibrary.ru/KVGGUR

19. Chemist’s handbook in the XXI century [Internet]. [cited 2023 Nov 23]. Available from: https://www.chem21.info/info/914632

20. Deal with pests and weeds in your garden [Internet]. [cited 2023 Nov 23]. Available from: https://www.sb.by/articles/khimiya-drug-ili-vrag.html

21. Global agro-industrial complex loses 40% production due to pests: future harvest battles [Internet]. [cited 2023 Nov 23]. Available from: https://www.agroxxi.ru/gazeta-zaschita-rastenii/zrast/apk-mira-terjaet-40-produkcii-tolko-iz-za-vreditelei-kak-vygljadit-buduschee-borby-za-urozhai.html?ysclid=lrw2th987a731933217

22. Shishatskiy ON. Global crop protection industry. Journal of Siberian Federal University. Biology. 2021;14(4):541–549. (In Russ.). https://doi.org/10.17516/1997-1389-0371; https://www.elibrary.ru/ESDTMZ

23. Elansky SN. Late blight of potato in Russia. Protecting Potato. 2015;(1):8–11. (In Russ.). [Еланский С. Н. Особенности развития фитофтороза в России // Защита картофеля. 2015. № 1. С. 8–11.]. https://www.elibrary.ru/VEJEUV

24. Spiridonov YuYa, Mukhin VM, Vasil′eva GK, Chkanikov ND, Startsev SV. Restoring fertility of soils contaminated with industrial waste and pesticides. Bolshie Vyazemy; 2023. 234 p. (In Russ.). [Восстановление плодородия почв, загрязненных промышленными отходами и пестицидами / Ю. Я. Спиридонов [и др.] // Большие Вяземы, 2023. 234 с.].

25. Russia exported a record of 60 million tons of grain last year [Internet]. [cited 2023 Nov 25]. Available from: https://www.kommersant.ru/doc/6094963?ysclid=lrwcasrd3z503485832

26. Review No. 251: grain market in Russia and the CIS [Internet]. [cited 2023 Nov 25]. Available from: https://zerno.ru/sites/zerno.ru/files/reports/cereals_week_251___25.12.2023-31.12.2023_rus.pdf?ysclid=lrwburmpes698845968

27. Russian market of chemical plant protection products in 2023 [Internet]. [cited 2023 Nov 25]. Available from: https://ag-pl.ru/wp-content/uploads/2023/08/rynok_hszr_v_rossii_2023_pokazateli_i_prognozy_versiya_dlya_sajta.pdf

28. Zakharenko VA. Current state and prospects of the economy of the use of pesticidesin agroecosystems of Russia. Agrohimia. 2021;(5):68–83. (In Russ.). https://doi.org/10.31857/S0002188121050148; https://www.elibrary.ru/BUMWVK

29. Kalyagina EI, Shelkovnikov SA, Agafonova OV. State support of plant protection (by the example of Novosibirsk region). Vestnik NSUEM. 2021;(4):205–212. (In Russ.). https://doi.org/10.34020/2073-6495-2021-4-205-212; https://www.elibrary.ru/YNCIQI

30. Zakharenko VA. Economic efficiency of pesticides in agroecosystems of strategically valuable crops with the use of equipment with information technologies elements and precision farming. Achievements of Science and Technology in Agro-Industrial Complex. 2022;36(2):4–7. (In Russ.). https://doi.org/10.53859/02352451_2022_36_2_4; https://www.elibrary.ru/RUWQNK

31. Ivantsova EA, Sukhova OV. Classification of pesticides. Farmer. Volga Region. 2015;34(3):52–58. (In Russ.). [Иванцова Е. А., Сухова О. В. Классификация пестицидов // Фермер. Поволжье. 2015. Т. 34. № 3. С. 52–58.]. https://www.elibrary.ru/ZCPCYB

32. Classification of pesticides [Internet]. [cited 2023 Nov 25]. Available from: https://studbooks.net/941941/ekologiya/klassifikatsiya_pestitsidov?ysclid=lrxfkv7c4a882251579

33. Trends in the global pesticide market. Part 1. Synthetic pesticides. Our Agriculture. 2020;239(15):14–21. (In Russ.). [Тенденции на мировом рынке средств защиты растений. Часть 1. Синтетические пестициды // Наше сельское хозяйство. 2020. Т. 239. № 15. С. 14–21.]. https://www.elibrary.ru/HHPPCM

34. Petukhova MS, Orlova NV. Priority directions of scientific and technological development of agricultural plant protection in Russia and the world. International Agricultural Journal. 2021;64(2):7. (In Russ.). [Петухова М. С., Орлова Н. В. Приоритетные направления научно-технологического развития защиты сельскохозяйственных растений в России и мире // International Agricultural Journal. 2021. Т. 64. № 2. С. 7.]. https://www.elibrary.ru/PGYCET

35. Agricultural biologization and integrated plant protection system: new realities of the Russian agro-industrial complex. AgroSnabForum. 2016;148(8):66–67. (In Russ.). [Биологизация земледелия и интегрированная система защиты растений – новые реалии российского АПК // АгроСнабФорум. 2016. Т. 148. № 8. С. 66–67.]. https://www.elibrary.ru/WZETVN

36. 2022 Market Insight [Internet]. [cited 2023 Nov 27]. Available from: https://www.agropages.com/magazine/detail-301.htm

37. Analysis of production chains in high-tech chemical markets [Internet]. [cited 2023 Nov 27]. Available from: https://www.muctr.ru/upload/iblock/049/iinkj8jk92bnz6snk9msgqy4pej69eq0.pdf?ysclid=lsk8d1m159847388324

38. Frolova AV, Lopatkin DS. Creation of innovative scientific-technological center of development of low-tongue chemistry and specially clean substances (on the example of innovative scientific-technological center “Dolina Mendeleeva”). Advances in Chemistry and Chemical Technology. 2019;33(12):31–33. (In Russ.). [Фролова А. В., Лопаткин Д. С. Создание инновационного научно-технологического центра развития малотоннажной химии и особо чистых веществ (на примере инновационного научно-технологического центра «Долина Менделеева») // Успехи в химии и химической технологии. 2019. Т. 33. № 12. С. 31–33.]. https://www.elibrary.ru/EGPGUJ

39. CREON Conferences invites you to take part in the XIII international conference Pesticides 2023 [Internet]. [cited 2023 Nov 27]. Available from: https://kemerovo.sdexpert.ru/archive/company/kompaniya-creon-conferences-priglashaet-vas-prinyat-uchastie-v-xiii-mezhdunarodnoy-konferentsii-pest/?set_city=1

40. Paptsov AG, Popova AG. World market of chemical plant protection products and trends in its development. Agro-Food Policy in Russia. 2013;23(11):104–107. (In Russ.). [Папцов А. Г., Попова А. Г. Мировой рынок средств химической защиты растений и тенденции его развития // Агропродовольственная политика России. 2013. Т. 23. № 11. С. 104–107.]. https://www.elibrary.ru/RQDEJP

41. Crop Protection Chemicals Market Size [Internet]. [cited 2023 Nov 27]. Available from: https://www.mordorintelligence.com/industry-reports/global-crop-protection-chemicals-pesticides-market-industry

42. Agricultural trends in Russia in 2023–2024 [Internet]. [cited 2023 Nov 27]. Available from: https://agrotrend.ru/events/35068-agrotrendy-rossii-2023-2024

43. 8 World’s Biggest Agricultural Pest Control Companies [Internet]. [cited 2023 Nov 27]. Available from: https://scienceagri.com/8-worlds-biggest-agricultural-pest-control-companies

44. Pesticide Usage by Country 2024 [Internet]. [cited 2023 Nov 27]. Available from: https://worldpopulationreview.com/country-rankings/pesticide-usage-by-country

45. National Bureau of Statistics of China [Internet]. [cited 2023 Nov 27]. Available from: https://www.stats.gov.cn/english

46. Erokhin VL. China's five-year plan for 2021–2025 and the long-range economic development benchmarks. Marketing and Logistics. 2021;34(2):5–15. (In Russ.). [Ерохин В. Л. Пятилетний план Китая на 2021–2025 годы и долгосрочные ориентиры развития экономики страны // Маркетинг и логистика. 2021. Т. 34. № 2. С. 5–15.]. https://elibrary.ru/ODXTZN

47. Inactive substances. Providing farmers with domestic agricultural products remains a problem [Internet]. [cited 2023 Nov 27]. Available from: https://www.agroinvestor.ru/markets/article/33392-veshchestvo-v-bezdeystvii-obespechenie-agrariev-otechestvennymi-d-v-ostayetsya-pod-voprosom

48. What awaits the domestic market of plant protection products in the near future: opinion [Internet]. [cited 2023 Nov 27]. Available from: https://glavagronom.ru/news/chto-zhdet-otechestvennyy-rynok-szr-v-blizhayshem-budushchem-mnenie

49. Zakharenko VA. Features of development of the market of pesticides in Russia. Plant Protection and Quarantine. 2020;(2):34–36. (In Russ.). [Захаренко В. А. Особенности развития рынка пестицидов в России // Защита и карантин растений. 2020. № 2. С. 34–36.]. https://elibrary.ru/DUYBPL

50. 2022 overview of globally registered, launched pesticides and analysis of high-value and high-potential product varieties [Internet]. [cited 2023 Nov 27]. Available from: https://news.agropages.com/News/NewsDetail---45768.htm

51. KingAgroot CropScience will showcase seven patented compounds in the CAC2023 [Internet]. [cited 2023 Nov 27]. Available from: https://news.agropages.com/News/NewsDetail---46417.htm

52. 2023 China pesticide industry watch [Internet]. [cited 2023 Nov 27]. Available from: https://www.agropages.com/magazine/detail-321.htm

53. Top 20 Indian agrochemical companies in FY 2019–20: "In the midst of every crisis, lies great opportunity [Internet]. [cited 2023 Nov 28]. Available from: https://news.agropages.com/News/NewsDetail---36911.htm

54. India overtakes U.K. to become fifth largest economy in the world [Internet]. [cited 2023 Nov 28]. Available from: https://www.thehindu.com/news/national/india-overtakes-uk-to-become-fifth-largest-economy-in-the-world/article65844906.ece

55. AgroChem Summit 2023: India's agrochemicals export could reach US $11 billion by 2033 [Internet]. [cited 2023 Nov 28]. Available from: https://www.indianchemicalnews.com/chemical/agrochem-summit-2023-indias-agrochemicals-export-could-reach-us-11-billion-by-2033-20202

56. Indian pesticide manufacturers are waiting for promised government support and plan to reach US$11 billion by 2033 [Internet]. [cited 2023 Nov 28]. Available from: https://www.agroxxi.ru/gazeta-zaschita-rastenii/novosti/indiiskie-proizvoditeli-pesticidov-zhdut-obeschannuyu-gospodderzhku-i-planiruyut-dostich-11-mlrd-dollarov-ssha-k-2033-godu.html

57. Global pesticides market outlook 2031 [Internet]. [cited 2023 Nov 28]. Available from: https://growthmarketreports.com/report/pesticides-market-global-industry-analysis

58. Chekmarev PA. Results of plant growing in 2014. Economics of Agriculture of Russia. 2015;(3):28–37. (In Russ.). [Чекмарев П. А. Итоги работы отрасли растениеводства в 2014 году // Экономика сельского хозяйства России. 2015. № 3. С. 28–37.]. https://elibrary.ru/TQCCVJ

59. Mikhailikova VV, Strebkova NS. Analysis of the pesticide market in the Russian Federation. Proceedings of the Kuban State Agrarian University. 2021;(91):225–227. (In Russ.). https://doi.org/10.21515/1999-1703-91-225-227

60. Analysis of Russian pesticide market in 2018–2022: under-sanctions forecast for 2023–2027 [Internet]. [cited 2023 Nov 30]. Available from: https://businesstat.ru/images/demo/pesticides_russia_demo_businesstat.pdf

61. Import quota of agrochemicals to Russia is 16 748 tons [Internet]. [cited 2023 Nov 30]. Available from: https://www.interfax.ru/russia/928535

62. Ministry of Industry and Trade tells about the capacities of domestic pesticide production [Internet]. [cited 2023 Nov 30]. Available from: https://www.pnp.ru/economics/v-minpromtorge-rasskazali-o-moshhnostyakh-otechestvennogo-proizvodstva-pesticidov.html

63. Quotas for the import of pesticides to be phased until 2030, Ministry of Industry and Trade reports [Internet]. [cited 2023 Nov 30]. Available from: https://поле.рф/journal/publication/3576

64. Ministry of Agriculture starts interdepartmental coordination of restrictions on pesticide import [Internet]. [cited 2023 Nov 30]. Available from: https://www.rbc.ru/newspaper/2023/05/30/6474a84b9a79471cc9082627

65. Kolchin IK, Potapov RI, Poltev MI. Current trends in production development and pesticide use in the Russian Federation. AgroForum. 2021;(6):25–28. [Колчин И. К., Потапов Р. И., Полтев М. И. Современные тенденции развития производства и применения химических средств защиты растений в Российской Федерации // АгроФорум. 2021. № 6. С. 25–28.]. https://elibrary.ru/EIHZSE

66. Mitrofanov SV, Varfolomeeva MM, Grachev NN. Current state and perspectives of the development of chemical plant protection in the Russian Federation. Technical Support for Agriculture. 2020;2(1):151–158. (In Russ.). [Митрофанов С. В., Варфоломеева М. М., Грачев Н. Н. Современное состояние и перспективы развития химической защиты растений в Российской Федерации // Техническое обеспечение сельского хозяйства. 2020. Т. 2. № 1. С. 151–158.]. https://elibrary.ru/BNWQJJ

67. Potapov R. Chemistry that changed the world. Izdatel′skie resheniya; 2018. 67 p. (In Russ.). [Потапов Р. Химия, изменившая мир. Издательские решения, 2018. 67 с.].

68. Achievements in 2023: Control over the handling of pesticides and agrochemicals, FSIS Saturn [Internet]. [cited 2023 Dec 02]. Available from: https://fsvps.gov.ru/news/itogi-2023-goda-kontrol-za-obrashheniem-s-pesticidami-i-agrohimikatami-fgis-saturn

69. State register of plant protection products and fertilizers [Internet]. [cited 2023 Dec 02]. Available from: https://ggiskzr.by/reestr

70. CORAGEN® insecticide [Internet]. [cited 2023 Dec 02]. Available from: https://www.cdms.net/ldat/ldI07018.pdf

71. State catalog of pesticides and agrochemicals [Internet]. [cited 2023 Dec 02]. Available from: https://mcx.gov.ru/ministry/departments/departament-rastenievodstva-mekhanizatsii-khimizatsii-i-zashchity-rasteniy/industry-information/info-arkhiv/?ysclid=lrni0kfc90807923151

72. Zakharenko VA. Biopesticides and plant protection products with no-biocidal activity in integrated phitosanitary condition of cereal agroecosistems. Agrohimia. 2015;(6):64–76. (In Russ.). [Захаренко В. А. Биопестициды и средства защиты растений с небиоцидной активностью в интегрированном управлении фитосанитарным состоянием зерновых агроэкосистем // Агрохимия. 2015. № 6. С. 64–76.]. https://elibrary.ru/PZNHZR

73. Safronovskaya G. Biopesticides as a promising segment of plant protection market. Our Agriculture. 2021;249(1):28–35. (In Russ.). [Сафроновская Г. Биопестициды – перспективный сегмент рынка средств защиты растений // Наше сельское хозяйство. 2021. Т. 249. № 1. С. 28–35.]. https://elibrary.ru/OKXYHL

ISSN 2074-9414 (Print)
ISSN 2313-1748 (Online)

https://doi.org/10.21603/2074-9414-2024-2-2512
https://elibrary.ru/GBYSJN

Оригинальная статья
https://fptt.ru

Изменение химического состава и антимикробной активности меда, хранящегося при низких температурах

Д. В. Грузнов[1,*], О. А. Грузнова[2], А. Б. Сохликов[1], А. В. Лобанов[2,3]

[1] *Всероссийский научно-исследовательский институт ветеринарной санитарии, гигиены и экологии, Москва, Россия*

[2] *Федеральный исследовательский центр химической физики им. Н. Н. Семенова Российской академии наук, Москва, Россия*

[3] *Московский педагогический государственный университет, Москва, Россия*

Поступила в редакцию: 22.11.2023
Принята после рецензирования: 20.12.2023
Принята к публикации: 09.01.2024

**Д. В. Грузнов:* 79164422245@yandex.ru, https://orcid.org/0000-0001-6679-9466*
О. А. Грузнова https://orcid.org/0000-0002-0241-1482
А. Б. Сохликов: https://orcid.org/0000-0001-6402-4624
А. В. Лобанов: https://orcid.org/0000-0003-4205-7630

© Д. В. Грузнов, О. А. Грузнова, А. Б. Сохликов, А. В. Лобанов, 2024

Аннотация.
В процессе хранения натуральный мед может менять свои физико-химические и биологические свойства. Согласно требованиям ГОСТ 19792-2017 мед следует хранить при температуре не выше 20 °С. Существуют литературные данные о длительном хранении меда при низких температурах, что обеспечивает стабильность его некоторых физико-химических показателей. Несмотря на перспективность практического использования низких температур, необходимо учитывать их возможное негативное влияние на химический состав меда. Цель исследования – изучение влияния различных температурных условий хранения меда разного ботанического происхождения на его физико-химические и биологические показатели.
Объектами исследования были образцы свежеоткачанного липового, гречишного и подсолнечникового меда из Ростовской, Волгоградской, Курской, Воронежской и Саратовской областей, а также Краснодарского края. Образцы хранились в климатических испытательных камерах М-60/100-500 КТВХ в течение 12 месяцев. Для определения физико-химических и биологических показателей применялись общепризнанные, стандартные и авторские методики.
В результате исследований обнаружили, что гидроксиметилфурфураль стабилен при –18 °С в течение 12 месяцев; при 18 °С на 12-м месяце наблюдалось его резкое увеличение на 472,5–488,1 %. Выявили снижение активности ферментов диастазы, D-глюкозо-1-оксидазы и каталазы при всех температурных режимах уже на 1-м месяце хранения. Минимальные изменения наблюдались при 0 и 5 °С. В данном температурном диапазоне был стабилен пероксид водорода (H_2O_2): на 12-м месяце хранения его концентрация снизилась не более чем на 12,2 %. Влажность, массовая доля редуцирующих сахаров и кислотность всех образцов значительно не изменились. Проведенный антимикробный тест с использованием культур *Escherichia coli* (штамм 1257), *Staphylococcus aureus* (штамм 209-Р) и *Bacillus cereus* (штамм 96) показал, что наибольшим ингибирующим действием обладали образцы липового и гречишного меда, хранившиеся при 5 и 0 °С в течение 12 месяцев.
Оптимальные температуры для хранения меда в течение длительного времени находятся в пределах от 5 до 0 °С. Полученные результаты могут быть использованы в качестве дополнительных рекомендаций при внесении изменений в нормативную документацию, регулирующую требования к хранению меда.

Ключевые слова. Мед, температура хранения, гидроксиметилфурфураль, сахара, кислоты, ферменты, пероксид водорода, микроорганизмы

Финансирование. Работа выполнена по научной теме молодежной лаборатории переработки природного сырья в рамках реализации программы стратегического академического лидерства «Приоритет-2030» (проект № 122122600056-9).

Для цитирования: Изменение химического состава и антимикробной активности меда, хранящегося при низких температурах / Д. В. Грузнов [и др.] // Техника и технология пищевых производств. 2024. Т. 54. № 2. С. 330–341. https://doi.org/10.21603/2074-9414-2024-2-2512

https://doi.org/10.21603/2074-9414-2024-2-2512
https://elibrary.ru/GBYSJN

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

Effect of Low-Temperature Storage on Chemical Composition and Antimicrobial Activity of Honey

Dmitry V. Gruznov[1,*], Olga A. Gruznova[2], Alexey B. Sokhlikov[3], Anton V. Lobanov[2,3]

[1] *All-Russian Research Institute of Veterinary Sanitation, Hygiene and Ecology, Moscow, Russia*

[2] *Semenov Federal Research Center for Chemical Physics, Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia*

[3] *Moscow Pedagogical State University, Moscow, Russia*

Received: 22.11.2023
Revised: 20.12.2023
Accepted: 09.01.2024

**Dmitry V. Gruznov: 79164422245@yandex.ru, https://orcid.org/0000-0001-6679-9466*
Olga A. Gruznova: https://orcid.org/0000-0002-0241-1482
Alexey B. Sokhlikov: https://orcid.org/0000-0001-6402-4624
Anton V. Lobanov: https://orcid.org/0000-0003-4205-7630

© D.V. Gruznov, O.A. Gruznova, A.B. Sokhlikov, A.V. Lobanov, 2024

Abstract.
Natural honey can change its physicochemical and biological properties during storage. According to State Standard 19792-2017, honey should be stored at ≤ 20°C. Some publications promote long-term storage of honey at temperatures between 0 and –20°C that preserves its physicochemical parameters, especially the content of hydroxymethylfurfural. Promising as they seem, such temperature modes may affect other physicochemical parameters of honey. The research objective was to study the effect of different temperature conditions on various honey samples and their physicochemical and biological parameters during long-term storage.

The study applied standard and authentic research methods to fresh linden, buckwheat, and sunflower honey samples obtained from Rostov, Volgograd, Kursk, Voronezh, Saratov, and Krasnodar regions. They were stored in heat, cold, and moisture test chambers M-60/100-500 for 12 months.

Hydroxymethylfurfural proved stable at –18°C for 12 months. After 12 months at 18°C, it showed a sharp increase of 472.5–488.1%. The activity of enzymic diastase, D-glucose-1-oxidase, and catalase occurred at all temperature modes after 1 month of storage. At 0–5°C, the changes were minimal: hydrogen peroxide (H_2O_2) remained stable, and its concentration decreased by ≤ 12.2% after 12 months of storage. Moisture, mass fraction of reducing sugars, and acidity remained stable in all samples. An antimicrobial test by *Escherichia coli* (strain 1257), *Staphylococcus aureus* (strain 209-P), and *Bacillus cereus* (strain 96) showed that the best inhibiting properties belonged to the samples of linden and buckwheat honey stored at 5 and 0°C for 12 months.

The optimal temperatures for long-term honey storage were in the range between 5 and 0°C. The results obtained can be used in updated honey storage standards.

Keywords. Honey, storage temperature, hydroxymethylfurfural, sugars, acids, enzymes, hydrogen peroxide, microorganisms

Finding. The research was a project by the Youth Laboratory for Natural Raw Material Processing as part of Strategic Academic Leadership Program Priority 2030 (No. 122122600056-9).

For citation: Gruznov DV, Gruznova OA, Sokhlikov AB, Lobanov AV. Effect of Low-Temperature Storage on Chemical Composition and Antimicrobial Activity of Honey. Food Processing: Techniques and Technology. 2024;54(2):330–341. (In Russ.). https://doi.org/10.21603/2074-9414-2024-2-2512

Введение

Натуральный пчелиный мед на протяжении многих веков считается не только ценным пищевым, но и лечебным продуктом с выраженной антимикробной активностью, которая обусловлена входящими в его состав моносахаридами, ферментами, органическими и неорганическими кислотами, фенольными соединениями [1–5]. По некоторым литературным данным, антимикробная активность меда зависит от содержания в нем пероксида водорода [6–8].

Полезные свойства меда сохраняются в течение длительного времени, но только при условии соблюдения определенных режимов его хранения. Согласно требованиям действующего ГОСТ 19792-2017 этот

продукт следует хранить в местах, недоступных воздействию прямых солнечных лучей, при температуре, не превышающей 20 °С, в плотно укупоренных ёмкостях 12 месяцев от даты проведения экспертизы, в герметично укупоренной таре 24 месяца от даты упаковки и 12 месяцев после вскрытия герметичной упаковки.

Существуют данные о хранении меда при низких температурах [9–12]. Данный подход используют для подавления брожения, которое может возникнуть в меде с содержанием влаги более 20 %, а также для предотвращения кристаллизации [9, 13, 16]. Воздействие низких температур (от 0 до –20 °С) в течение длительного времени приводит к замедлению химических процессов и стабилизации таких физико-химических показателей меда, как электропроводность, влажность, кислотность, содержание фенольных соединений [9]. Хранение меда при указанных температурах замедляет образование и накопление гидроксиметилфурфураля – продукта дегидратации моносахаридов, обладающего нейротоксическим, цитотоксическим, генотоксическим и мутагенным действиями [15–19].

Таким образом, хранение меда при низких температурах может быть перспективным для практического использования. Однако следует учитывать тот факт, что, стремясь к предотвращению накопления гидроксиметилфурфураля, нельзя забывать о потенциальном негативном воздействии низких температур на остальные физико-химические параметры меда, особенно те, которые обуславливают его антибактериальное действие.

Одними из самых распространенных и важных медоносов России, стран СНГ и Европы являются гречиха (гречиха посевная, *Fagopyrum esculentum* Moench.), липа (липа мелколистная, *Tilia cordata* Mill.) и подсолнечник (подсолнечник однолетний, *Helianthus annuus* L.). В России (преимущественно в лесостепной зоне европейской части страны, Алтайском крае, Забайкалье и Приморско-Амурском регионе), а также на территории Казахстана гречиха посевная обеспечивает получение свыше 50 % товарного меда [18]. Медопродуктивность гречихи может достигать 60–362 кг/га [19]. Другое ценнейшее медоносное растение – липа мелколистная, которая занимает большой ареал в зоне широколиственных лесов европейской части России, распространяясь до Урала, а также встречается в Крыму и на Кавказе. Ее медопродуктивность составляет в среднем 700–1000 кг/га [20]. Подсолнечник однолетний – медоносная и пыльценосная культура, обеспечивающая медосбор в России, в Казахстане, на Украине, а также в странах южной и юго-восточной Европы. Медопродуктивность находится на уровне 40–50 кг/га [21].

Целью исследования стало изучение влияния различных температурных условий хранения меда разного ботанического происхождения на его физико-химические и биологические показатели в течение длительного времени.

Объекты и методы исследования

Объект исследования – образцы подсолнечникового *Helianthus annuus* L. (n = 36), липового *Tilia cordata* Mill. (n = 31) и гречишного *Fagopyrum esculentum* Moench. меда (n = 34), поступившие в лабораторию ветеринарной санитарии и экологической безопасности в пчеловодстве ВНИИВСГЭ – филиал ФГБНУ ФНЦ ВИЭВ РАН из следующих регионов России: Ростовской, Волгоградской, Курской, Воронежской и Саратовской областей, а также из Краснодарского края в период 2021–2022 гг. Образцы хранились в климатических испытательных камерах М-60/100-500 КТВХ (АО «ЛОИП», РФ).

Монофлерность образцов меда подтверждали с помощью микроскопического анализа палинологического состава в соответствии с ГОСТ 31769-2012. Световую микроскопию образцов меда проводили с использованием тринокулярного микроскопа AmScope T390C («AmScope», КНР) при увеличении ×400. Фотографическое изображение пыльцевых зерен получали с помощью цифровой камеры Levenhuk M1000 PLUS («Levenhuk», США).

Массовую долю воды (влажность) исследуемых образцов определяли рефрактометрическим методом по ГОСТ 31774-2012 при помощи рефрактометра ИРФ-454 Б2М («ОАО «Казанский оптико-механический завод» (КОМЗ)», Россия).

Гидроксиметилфурфураль был детектирован методом ОФ-ВЭЖХ в соответствии с ГОСТ 31768-2012. Анализ проводился с использованием хроматографа Shimadzu LC-20 Prominence и колонки Eclipse XDB-C18 (150×4,6 мм, 5 мкм) с диодно-матричным детектором (диапазон одновременно детектируемых длин волн 210–400 нм), рабочая длина волны 283 нм, в градиентном режиме при скорости потока 1,0 мл/мин. Время удерживания пика – 3,83 мин. Использовали коммерческий гидроксиметилфурфураль с содержанием основного вещества не менее 99 % («Sigma-Aldrich», США), из которого приготавливали стандартные растворы с концентрациями 150,0, 100,0, 50,0, 30,0, 25,0, 20,0, 15,0, 10,0, 5,0 и 1,0 мкг/мл для построения калибровочной кривой. Растворы Карреза I и II для осаждения протеинов и стабилизации гидроксиметилфурфураля в водном растворе готовили согласно указанному ГОСТу.

Определение суммарной массовой доли редуцирующих сахаров (глюкозы и фруктозы) проводили по ГОСТ 32167-2013 колориметрическим методом. Сущность данного метода заключается в определении оптической плотности раствора железосинеродистого калия $K_3[Fe(CN)_6]$ (≥ 99,5 %, «ЛенРеактив», Россия) после его взаимодействия с редуцирующими сахарами меда. Анализ проводился на фотоколориметре КФК-2 («АО Загорский оптико-механический завод (ЗОМЗ)», Россия) при длине волны λ = 440 нм.

Для определения свободной кислотности провели титрование водных растворов образцов меда 0,1 М

раствором гидроксида натрия NaOH (99,2 %, «ЛенРеактив», Россия) до pH 8,30. Значение pH контролировали с помощью потенциометрического анализатора (pH-метра) Hanna edge с pH-электродом HI11310 («Hanna Instruments», США). Результаты выражали в миллиэквивалентах соляной кислоты в 1 кг меда – мэкв/кг.

Активность диастазы определяли на основе ГОСТ 34232-2017 колориметрическим методом и выражали в $см^3$ 1 % (мас.) раствора крахмала, расщепляемого за 1 ч амилолитическими ферментами, содержащимися в 1 г безводного вещества меда.

Определение активности каталазы осуществляли в соответствии с методикой, разработанной А. В. Аганиным. Согласно данной методике активность выражали в $мм^3$ кислорода, выделяющегося при воздействии каталазы, содержащейся в 1 г меда, на 10 мл 1 % (мас.) раствора H_2O_2 в течение 24 ч [22].

Активность D-глюкозо-1-оксидазы определяли по методу, описанному в работе I. Flanjak и соавторов [23]. Сущность данного метода заключается в восстановлении H_2O_2 до воды пероксидазой с использованием 3,3'-диметоксибензидина в качестве субстрата. Образовавшийся окрашенный продукт детектировался спектрофотометрически и имел максимальное поглощение при длине волны λ = 400 нм. Реакционная смесь состояла из 0,7 мл 2,14 мМ глюкозы (≥ 99,5 %, «Merck», Германия), растворенной в 100 мМ натрий-фосфатного буфера (pH 6,1), 0,1 мл этанольного раствора 3,3'-диметоксибензидина (1 мг/мл) («Merck», Германия), 0,1 мл пероксидазы хрена («Serva», Германия), приготовленной в 100 мМ натрий-фосфатном буфере (pH 6,1), и 0,1 мл раствора меда (0,2 г/мл), приготовленного в 100 мМ натрий-фосфатном буфере (pH 6,1). После добавления раствора меда реакционную смесь инкубировали в течение 30 мин при 37 °C и останавливали добавлением 0,1 мл 1 М соляной кислоты – HCl (≥ 37 %, «ЛенРеактив», Россия). Поглощение смеси измеряли при OD_{400} нм (спектрофотометр ПЭ5400УФ, «Экросхим», Россия) против контрольного образца, состоящего из всех компонентов реакции, кроме меда. Затем измеренное поглощение корректировали по отношению к поглощению реакционной смеси нулевой минуты. Реакционная смесь нулевой минуты состояла из всех компонентов, но раствор меда вносили после добавления соляной кислоты. Результаты выражали в мкг H_2O_2/ч г меда.

Содержание H_2O_2 в меде определяли с помощью ранее адаптированного и модифицированного нами спектрально-иодометрического метода. Суть данного метода заключается в том, что при взаимодействии иодида калия с H_2O_2 в кислой среде выделяется молекулярный йод, образующий с избытком йодид-аниона комплексный анион, регистрируемый методом электронной абсорбционной спектроскопии [24]. Аналитические растворы образцов меда получали путем взвешивания 1,00 ± 0,01 г каждой пробы, после чего к ним добавляли по 2,0 мл воды ВЭЖХ («Химия XXI Век», Россия) и перемешивали в течение 3–5 мин на вихревом смесителе Vortex mixer VM-300S («Joan Lab Equipment», КНР) или ультразвуковом гомогенизаторе Bandelin Sonopuls HD 2200 (Bandelin, Германия) до полного растворения. Из полученных аналитических растворов отбирали по 1,0 мл и добавляли 1,0 мл 0,2 М серной кислоты H_2SO_4 (≥ 93,6 %, «ЛенРеактив», Россия), после чего проводили пропускание диоксида углерода (ГОСТ 8050-85). На последнем этапе пробоподготовки к аналитическим растворам добавляли 5 % раствор йодида калия KI (99,5 %, «Русхим», Россия), через который заранее был пропущен диоксид углерода. Готовые аналитические растворы проб меда инкубировали при комнатной температуре в течение 24 ч в темном месте. Электронные спектры поглощения регистрировали с помощью спектрофотометра ПЭ5400УФ («Экросхим», Россия). Максимум поглощения наблюдался при λ = 351 нм.

Антимикробную активность исследуемых образцов меда до и на 12-м месяце хранения при указанных температурах определяли, используя метод диффузии в агар с микроорганизмами суточных тест-культур. В качестве тест-микроорганизмов брали *Escherichia coli* (штамм 1257), *Staphylococcus aureus* (штамм 209-Р) и *Bacillus cereus* (штамм 96) (коллекция ВНИИВСГЭ – филиала ФГБНУ ФНЦ ВИЭВ РАН). Из смыва каждой культуры готовили суспензию с количеством микробных клеток в 1 мл, равном 10^4 (количество устанавливалось по стандарту мутности), и высевали ее в предварительно подготовленные стерильные чашки Петри с мясо-пептонным агаром с лункой в центре (6 чашек на каждую пару микроорганизм – образец меда), в которые помещались образцы меда весом 0,10 ± 0,01 г. Посевы инкубировались в течение 24 ч при температуре 37 °C. Учет результатов проводился по диаметру зоны задержки роста вокруг образца меда. В качестве контроля использовались чашки Петри с тест-культурой, в которые не вносился образец меда.

Статистическую обработку результатов проводили с использованием программного обеспечения MS Excel 2010. Все измерения выполняли в 3-х повторностях. Достоверность различия средних величин устанавливали с помощью *t*-критерия Стьюдента при уровне значимости $p < 0,05$.

Результаты и их обсуждение

Согласно ГОСТ 31766-2022 и ГОСТ 31766-2022 натуральный липовый и гречишный мед должны содержать не менее 30 % доминирующих пыльцевых зерен, подсолнечниковый мед – не менее 45 %. В соответствии с требованиями ГОСТ 31769-2012 общее количество пыльцевых зерен при проведении палинологического анализа должно составлять не менее 500.

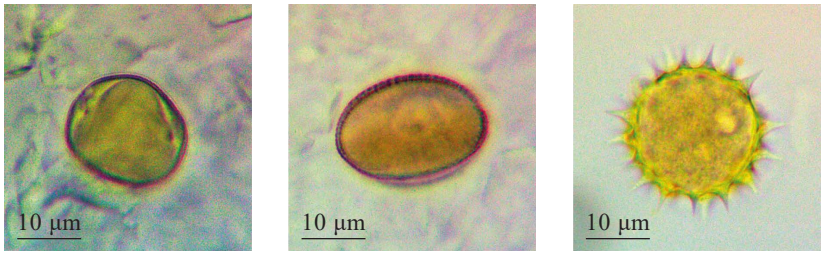
Изученные образцы полностью соответствовали указанным требованиям: общее количество пыльцевых зерен липового меда превышало 600, из них 42 ± 2 % были определены как пыльцевые зерна липы (*Tilia*). Результаты палинологического анализа проб гречишного и подсолнечникового меда были также поло-

жительными: общее количество пыльцевых зерен составило 620 и 680 соответственно. Из них доминирующих зерен было 45 ± 3 % (*Fagopyrum*) и 63 ± 2 % (*Helianthus*). На рисунке 1 представлены фотографии пыльцевых зерен указанных медоносов (×400).

Зерно липы мелколистной – трехбороздно-оровое, шаровидно-сплющенной формы, цвет светло-желтый. Гречиха посевная имеет эллипсоидальную форму, сетчатую скульптуру, цвет зерна темно-желтый. Зерно подсолнечника однолетнего золотистое, шаровидной формы с характерной шиповатой скульптурой, расположение шипов равномерное. Данное описание полностью совпадает с приведенными в литературных источниках характеристиками пыльцы этих медоносов [25, 26].

Перед закладкой на хранение образцов свежеоткачанного липового, гречишного и подсолнечникового меда провели оценку их физико-химических показателей (табл. 1).

Как видно из данных таблицы 1, все показатели, регламентируемые нормативными документами, находились в установленных пределах. Определение активности каталазы и D-глюкозо-1-оксидазы, а также содержания H_2O_2 в настоящее время не регулируется законодательством РФ. Однако существуют



a b c

Рисунок 1. Фотографические изображения пыльцевых зерен (×400): a – липа мелколистная (*Tilia cordata* Mill.), b – гречиха посевная (*Fagopyrum esculentum* Moench.), c – подсолнечник однолетний (*Helianthus annuus* L.)

Figure 1. Pollen grain (×400): a – linden (*Tilia cordata* Mill.), b – buckwheat (*Fagopyrum esculentum* Moench.), c – sunflower (*Helianthus annuus* L.)

Таблица 1. Анализ химического состава образцов липового, гречишного и подсолнечникового меда

Table 1. Chemical composition of linden, buckwheat, and sunflower honey samples

Анализируемый показатель	Регламентируемая норма	Образцы меда		
		Липовый	Гречишный	Подсолнечниковый
ГОСТ 31766-2022				
Влажность, %	не более 20,0*	18,2 ± 0,5	17,9 ± 0,7	16,8 ± 0,8
	не более 19,0**			
	не более 18,0***			
Суммарная массовая доля редуцирующих сахаров, %	не менее 66,0*	86,6 ± 3,9	86,8 ± 3,6	89,9 ± 1,6
	не менее 68,0**			
	не менее 71,0***			
Свободная кислотность, мэкв/кг	10,0–25,0*	24,6 ± 0,8	26,3 ± 1,1	25,1 ± 0,9
	10,0–40,0**			
	10,0–30,0***			
Диастазное число, ед. Готе	не менее 8,0*	17,5 ± 0,8	40,2 ± 0,8	16,5 ± 1,4
	не менее 18,0**			
	не менее 15,0***			
ГОСТ 19792-2017				
Массовая доля гидроксиметилфурфураля, мг/кг	не более 25,0	2,36 ± 0,11	3,25 ± 0,15	2,44 ± 0,10
Нерегламентированные показатели				
Каталаза, мм^3 O_2	–	330 ± 14	485 ± 22	850 ± 22
D-глюкозо-1-оксидаза, мкг H_2O_2/ч г	–	432,1 ± 10,5	385,9 ± 12,3	187,8 ± 9,1
Содержание H_2O_2, $\times10^{-4}$ М	–	1,71 ± 0,05	1,48 ± 0,07	0,79 ± 0,03

Примечание. Требования нормативных документов для *липового меда, **гречишного меда, ***подсолнечникового меда.

Note: Standard requirements for *linden honey, **buckwheat honey, ***sunflower honey.

литературные источники, в которых приведены методики их определения, и данные, демонстрирующие успешность их применения при проведении анализа химического состава меда [22, 23, 27].

Для изучения изменений физико-химических и биологических показателей меда в процессе длительного хранения при разных температурных режимах полученные исходные значения были приняты за контрольные.

Одинаковые по массе (100,0 ± 0,1 г) навески образцов меда были помещены в стерильные полипропиленовые контейнеры с герметично завинчивающимися крышками и заложены на хранение в климатические камеры при температурах 18, 10, 5, 0, –5, –10 и –18 (± 2) °С, влажности 55 (± 3) % на срок 12 месяцев. Выбор температур обусловлен тем, что 18 ± 2 °С – максимальный предел температуры хранения меда, соответствующий требованиям ГОСТ (не более 20 °С), хранение при 10, 5, 0, –5, –10 и –18 (± 2) °С – моделирование воздействия низких температур, при которых наблюдались изменения в химическом составе меда. Полученная динамика представлена на рисунке 2.

Массовая доля гидроксиметилфурфураля во всех анализируемых образцах постепенно увеличивалась при всех температурах, за исключением –18 °С. Наиболее интенсивно этот процесс начинал протекать после 3-го месяца хранения. На графиках (рис. 2) можно отследить зависимость увеличения гидроксиметилфурфураля от температуры хранения. Максимальное содержание гидроксиметилфурфураля отмечалось в образцах, хранящихся при 18 °С. На 12-м месяце было установлено его повышение относительно исходного значения на 472,5 % в образцах липового меда и на 484,0 и 488,1 % – гречишного и подсолнечникового соответственно. Однако предельно допустимая концентрация (25 мг/кг) не была превышена. На протяжении всего периода исследований содержание гидроксиметилфурфураля было стабильно при –18 °С. В образцах липового и подсолнечникового меда в процессе хранения отмечалось небольшое его снижение: на 12-м месяце – на 5,9 и 2,5 % соответственно. Полученные данные согласуются с результатами исследований M. Kędzierska-Matysek с соавторами и I. N. Pasias с соавторами, в которых была продемонстрирована стабильность гидроксиметилфурфураля в образцах меда различного ботанического происхождения, хранящихся при отрицательных температурах, и повышение уровня этого показателя в пробах, подвергнутых хранению при комнатной температуре [9, 10].

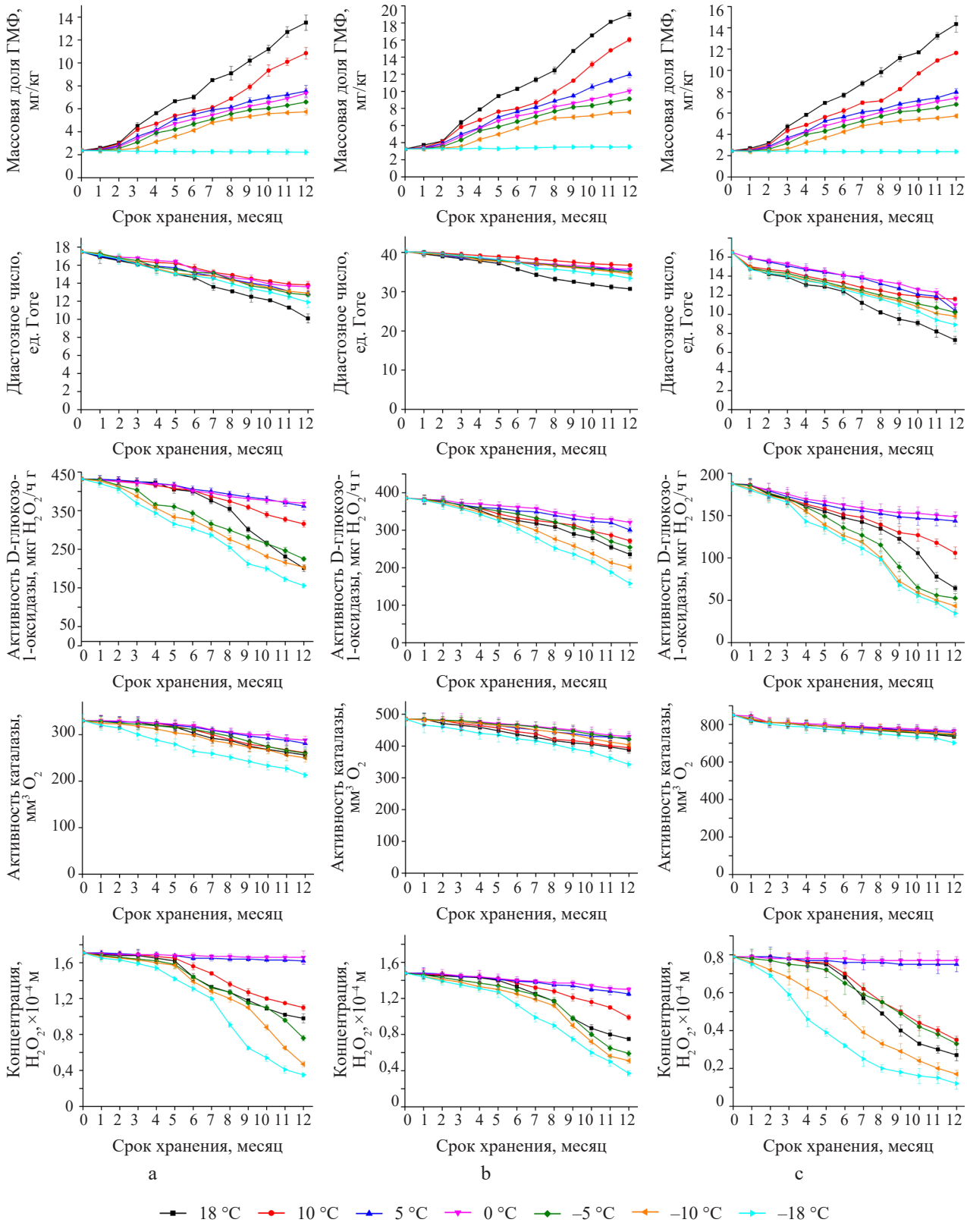
Снижение диастазной активности образцов меда наблюдалось уже на 1-м месяце хранения при всех температурных режимах (рис. 2). Однако для образцов гречишного меда, хранившихся при всех указанных температурах за весь период исследования, этот показатель находился в пределах, установленных нормативными документами. Та же тенденция прослеживалась и для липового меда, за исключением образцов, подвергнутых хранению в течение 12 месяцев при 18 °С (среднее отклонение от норматива 0,9 ед. Готе). Диастазное число образцов подсолнечникового меда было ниже допустимой нормы во всех вариантах эксперимента, кроме хранения при 0 и 5 °С в течение 3 месяцев.

В результате хранения при 18 °С диастазная активность всех образцов значительно снижалась к концу исследований. На 12-м месяце эксперимента в образцах липового меда она снизилась на 42,3 %, в образцах гречишного меда – на 66,4 %, подсолнечникового – на 55,8 %. Неблагоприятное влияние оказала температура –18 °С: на 12-м месяце в липовом меде диастазное число составило 11,90 ± 0,96 ед. Готе, что на 32,0 % меньше, чем до закладки на хранение, в гречишном – 33,4 ± 0,7 ед. Готе (разница с исходным значением 16,9 %), в подсолнечниковым – 8,9 ± 0,7 ед. Готе (разница составила 46,1 %). Минимальные изменения в этом параметре произошли при 0, 5 и 10 °С.

Как и диастазное число, активность D-глюкозо-1-оксидазы начинала падать на первом месяце хранения при всех температурных режимах (рис. 2). Интенсивность снижения активности фермента зависела от температуры хранения: максимальное снижение наблюдалось на 12-м месяце при –18 °С: на 64,0, 59,1 и 81,6 % (по сравнению с контролем) для образцов липового, гречишного и подсолнечникового меда соответственно. Значительные изменения (на 34,0–76,9 % в зависимости от ботанического происхождения меда) произошли в результате хранения при –10, –5 и 18 °С. Наиболее благоприятным режимом оказалось хранение при температурах 5 и 0 °С: на 12-м месяце исследований активность фермента снизилась всего на 14,6–23,5 %.

Анализ содержания фермента каталазы заложенных на хранение образцов меда продемонстрировал ее бóльшую устойчивость к воздействию как низких, так и комнатной температур, по сравнению с ферментами, описанными выше. Как и в случае с диастазой и D-глюкозо-1-оксидазой, на протяжении всего периода исследований отмечалось постепенно снижение активности каталазы. Этот процесс при всех температурных режимах протекал не так интенсивно (рис. 2). В образцах подсолнечникового меда, характеризующегося изначально высоким содержанием каталазы (850 ± 22 мм^3 O_2), отмечались минимальные изменения этого показателя: на 12-м месяце каталаза снизилась на 10,0–17,4 % в зависимости от температуры хранения. В образцах липового и гречишного меда, в которых начальный уровень каталазы был ниже (330 ± 14 и 485 ± 19 мм^3 O_2 соответственно), к концу эксперимента он снизился на 12,7–35,5 и 11,3–29,5 % соответственно. Независимо от ботанического происхождения, минимальные изменения активности фермента наблюдались при температурах 5 и 0 °С.

Содержание в образцах меда H_2O_2 было стабильно при температурах 5 и 0 °С: на 12-м месяце его концентрация в образцах липового меда снизилась на 5,3 и 2,9 %, в образцах гречишного – на 15,5 и 12,2 %, подсолнечникового – на 5,1 и 2,5 % соответственно.



Примечание: 0 месяцев – исходные данные (контроль), полученные до закладки образцов на хранение; ГМФ – гидроксиметилфурфураль

Рисунок 2. Изменение физико-химических параметров образцов липового (a), гречишного (b) и подсолнечникового (c) меда в процессе хранения в течение 12 месяцев при разных температурах

Figure 2. Physicochemical parameters of linden (a), buckwheat (b), and sunflower (c) honey samples during 12 months of storage at different temperatures

В образцах, хранящихся при 18 °С, значительное уменьшение H_2O_2 начиналось на 6-м месяце, что согласуется с ранее полученными нами данными, продемонстрировавшими снижение H_2O_2 в образцах липового меда на 5,6 % с момента откачки до 6-го месяца, а с 6-го до 12-го месяца – на 36,2 %; в образцах гречишного меда – на 4,7 и 44,3 % соответственно; в образцах подсолнечникового меда – на 7,3 и 57,6 % соответственно.

Такая же тенденция прослеживалась и для образцов, подвергнутых хранению при 10 и –5 °С. В то же время хранение при –10 и –18 °С приводило к понижению этого показателя уже на первом месяце (рис. 2). Произошедшие в процессе хранения изменения с H_2O_2 могут быть обусловлены следующими факторами: нестабильностью молекулы H_2O_2 при температурах, выходящих за диапазон 0–5 °С; снижением при 18 °С, а также низких температурах активности D-глюкозо-1-оксидазы, под воздействием которой H_2O_2 образуется в меде в результате двухстадийной окислительно-восстановительной реакции; относительной стабильностью фермента каталазы, гидролизующей H_2O_2 до воды и кислорода [7].

В результате 12-месячного хранения образцов меда при указанных температурах влажность, суммарная массовая доля редуцирующих сахаров и свободная кислотность значительно не изменились (отличие от контроля менее 5 %) и находились в пределах, регламентированных нормативными документами. В связи с этим в таблице 2 приведены данные, полученные в конце эксперимента – на 12-м месяце хранения, а также исходные значения этих показателей (контроль).

Максимальное снижение влажности образцов липового меда составило 4,9 % при температуре 18 °С (относительно контроля), гречишного и подсолнечникового меда – 4,5 и 4,8 % соответственно при той же температуре. Минимальные отклонения от исходных значений наблюдались при 0 °С и отрицательных температурах. Полученные результаты согласуются с данными, полученными M. Kędzierska-Matysek с соавторами [9]. Стабильность влажности образцов, хранящихся при низких температурах, может объясняться более быстрым переходом молекул воды в связанную форму [28].

Та же тенденция прослеживалась и в отношении редуцирующих сахаров: их наименьшее количество отмечалось в анализируемых образцах, подвергнутых хранению при 18 °С. Для образцов липового и гречишного меда отклонение составило 3,3 %, подсолнечникового – 1,7 %. По данным G. P. Ribeiro и др., содержание редуцирующих сахаров в образцах меда, хранящихся при –18 °С в течение 180 суток, изменилось на 4,9 % [11]. Результаты, представленные в работе С. Н. Есенкиной, продемонстрировали отклонение этого показателя на 4,2 % после 3-месячного хранения при аналогичной температуре [29].

Свободная кислотность за 12 месяцев при всех температурах, наоборот, незначительно повысилась.

Таблица 2. Содержание влажности, редуцирующих сахаров и свободной кислотности в образцах липового, гречишного и подсолнечникового меда, хранившихся при разных температурах в течение 12 месяцев

Table 2. Moisture, reducing sugars, and free acidity in linden, buckwheat, and sunflower honey samples stored at different temperatures for 12 months

Анализируемый показатель	Контроль	Температура хранения, °С						
		18	10	5	0	–5	–10	–18
Липовый мед								
Влажность, %	18,2 ± 0,5	17,3 ± 0,2	17,4 ± 0,2	17,4 ± 0,2	17,4 ± 0,3	17,5 ± 0,3	17,6 ± 0,3	17,9 ± 0,6
Суммарная массовая доля редуцирующих сахаров, %	86,6 ± 3,9	83,8 ± 3,7	84,5 ± 2,9	84,6 ± 1,7	84,8 ± 3,5	85,1 ± 3,8	85,2 ± 3,5	85,7 ± 2,3
Свободная кислотность, мэкв/кг	24,6 ± 0,8	25,7 ± 1,2	25,6 ± 0,3	25,5 ± 1,2	25, 5 ± 0,9	25,4 ± 0,7	24,8 ± 0,6	24,7 ± 0,2
Гречишный мед								
Влажность, %	17,9 ± 0,7	17,1 ± 0,5	17,2 ± 0,6	17,3 ± 0,5	17,4 ± 0,4	17,5 ± 0,7	17,8 ± 0,3	17,8 ± 0,5
Суммарная массовая доля редуцирующих сахаров, %	86,8 ± 3,6	83,9 ± 1,3	84,3 ± 2,6	84,9 ± 2,4	85,3 ± 2,8	85,6 ± 2,8	86,2 ± 1,9	86,7 ± 3,1
Свободная кислотность, мэкв/кг	26,3 ± 1,1	27,3 ± 0,7	27,1 ± 0,9	27,0 ± 0,5	26,9 ± 1,3	26,8 ± 1,1	26,8 ± 1,2	26,6 ± 0,6
Подсолнечниковый мед								
Влажность, %	16,8 ± 0,8	16,0 ± 0,2	16,1 ± 0,3	16,2 ± 0,1	16,2 ± 0,1	16,2 ± 0,2	16,3 ± 0,3	16,4 ± 0,2
Суммарная массовая доля редуцирующих сахаров, %	89,9 ± 1,6	88,4 ± 1,4	89,4 ± 2,7	89,5 ± 2,9	89,6 ± 3,1	89,7 ± 2,8	89,8 ± 2,5	89,8 ± 3,8
Свободная кислотность, мэкв/кг	25,1 ± 0,9	25,8 ± 1,3	25,6 ± 1,2	25,6 ± 0,8	25,5 ± 1,2	25,4 ± 0,7	25,3 ± 0,9	25,2 ± 1,1

Была выявлена следующая закономерность: чем выше температура хранения, тем выше значение кислотности. При 18 °С этот показатель увеличился на 4,5 % для липового меда, на 3,8 % для гречишного и на 2,7 % для подсолнечникового. F. Braghini с соавторами отметили такую же тенденцию при исследовании меда, хранящегося при 22 °С [12].

Изменения, произошедшие с содержанием редуцирующих сахаров и свободной кислотностью, обусловлены скоростью прохождения процесса дегидратации, в результате которого из моносахаров образуются более простые соединения, в том числе органические кислоты, а также гидроксиметилфурфураль (что объясняет его стабилизацию низкими температурами). К тем же выводам пришли M. Kędzierska-Matysek и др., которые в своем исследовании рапсового меда показали, что при понижении температуры хранения этого продукта химические реакции протекали в нем гораздо медленнее [9].

С целью изучения влияния температурных условий при длительном хранении меда на его антимикробное действие был проведен тест на *Escherichia coli* (штамм 1257), *Staphylococcus aureus* (штамм 209-Р) и *Bacillus cereus* (штамм 96, вегетативная форма). Данные микроорганизмы являются наиболее распространенными тест-культурами при проведении микробиологических исследований, а также исследовании различных биохимических механизмов. *E. coli* и *S. aureus* известны как контаминанты слизистого и кожного эпителия человека и животных, поэтому при определенных условиях могут вызывать воспалительные процессы и пищевые отравления. *B. cereus*, хотя и является представителем почвенных бактерий, может также быть причиной токсикоинфекций [30–33].

Исследуемые образцы свежеоткачанного меда разного ботанического происхождения оказывали ингибирующее действие на рост всех тест-культур (рис. 3).

Антимикробная активность липового меда в отношении *S. aureus* (средний диаметр зоны задержки роста 38 мм) превосходила действие на *E. coli* (32 мм) и *B. cereus* (23 мм). Гречишный мед оказывал бóльшее ингибирующее влияние на *S. aureus* (31 мм), чем на *E. coli* (26 мм) и *B. cereus* (19 мм). Подсолнечниковый мед подавлял рост *S. aureus* (20 мм) в большей степени, чем *E. coli* (18 мм) и *B. cereus* (12 мм).

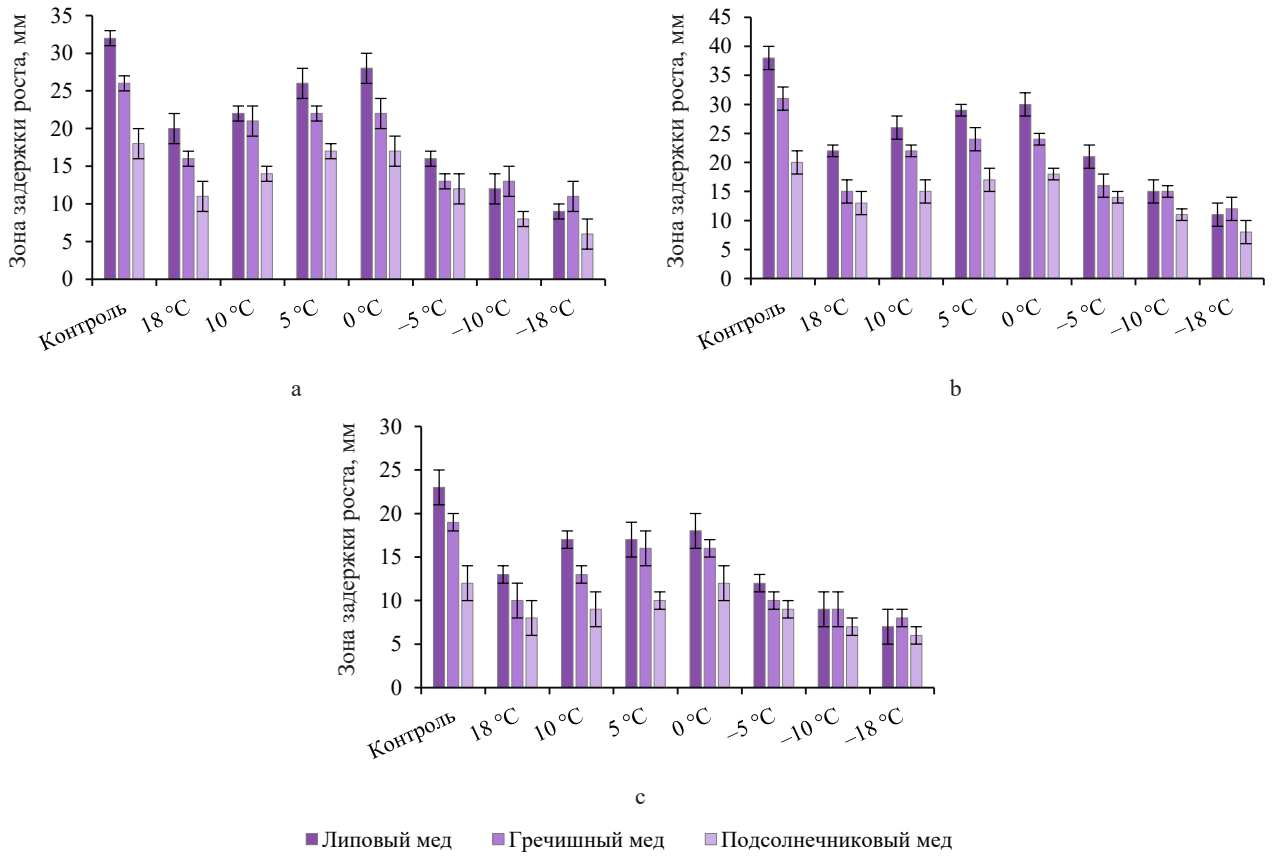


Рисунок 3. Ингибирование роста *Escherichia coli* (a), *Staphylococcus aureus* (b) и *Bacillus cereus* (c) образцами липового, гречишного и подсолнечникового меда: до закладки на хранение (контроль), а также на 12-м месяце хранения при температурах 18, 10, 5, 0, –5, –10 и –18 °С

Figure 3. Growth inhibition of *Escherichia coli* (a), *Staphylococcus aureus* (b), and *Bacillus cereus* (c) by linden, buckwheat, and sunflower honey: before storage (control) and after 12 months of storage at 18, 10, 5, 0, –5, –10, and –18°C

Золотистый стафилококк показал наименьшую устойчивость к меду, независимо от его ботанического происхождения, что объясняется различной резистентностью микроорганизмов к влиянию внешних факторов.

Во всех образцах меда, в зависимости от температуры хранения в течение 12 месяцев, наблюдалось падение антимикробной активности. Уровень ее снижения от большего к меньшему соответствовал следующим температурам: –18, –10, –5, 18, 10, 5 и 0 °С. Данная зависимость прослеживалась для всех видов меда.

Средняя степень снижения антимикробной активности липового меда (по сравнению с контролем) в отношении *S. aureus* при –18 и 0 °С составила 71 и 21 % соответственно; в отношении *E. coli* – 72 и 12,5 %; *B. cereus* – 69,5 и 21,7 %. Ингибирующее действие гречишного меда в отношении *S. aureus* снизилось на 61,3 и 22,6 % при –18 и 0 °С соответственно; в отношении *E. coli* – на 57,7 и 15,4 %; *B. cereus* – на 57,9 и 15,8 %. Та же тенденция отмечалась и для подсолнечникового меда: 60,0 при –18 °С и 10,0 % при 0 °С для *S. aureus*; 66,7 и 5,5 % для *E. coli*; 50,0 и 0,0 % (без учета отклонения от среднего значения) для *B. cereus*.

Снижение антимикробной активности можно объяснить уменьшением в исследуемых образцах меда концентрации H_2O_2, который является стабильной активной формой кислорода, вызывающей оксидативный стресс микробной клетки [34]. Образцы с низким содержанием H_2O_2 продемонстрировали меньший ингибирующий эффект в отношении всех трех микроорганизмов.

Выводы

Проводимый в течение 12 месяцев физико-химический и биологический анализ образцов липового, гречишного и подсолнечникового меда, хранящегося при разных температурах, позволил выявить определенные изменения в химическом составе и биологической активности исследуемых образцов.

Положительным результатом применения отрицательных температур (–5, –10 и особенно –18 °С) для длительного хранения меда стало замедление скорости химических процессов, что обусловило минимальные изменения в содержании токсичного соединения – гидроксиметилфурфураля. Однако такие температурные режимы хранения негативно влияли на ферментативную активность и концентрацию H_2O_2, которые, наряду с содержанием сахаров и кислот, являются факторами антимикробной активности меда. Подобные изменения произошли и с образцами, хранящимися при 18 и 10 °С, в которых отмечалось более высокое содержания гидроксиметилфурфураля. Менее интенсивно химические процессы протекали при 5 и 0 °С. Содержание гидроксиметилфурфураля в образцах, хранившихся при данных температурах в течение 12 месяцев, составило, в зависимости от ботанического происхождения меда, от 7,37 до 11,97 мг/кг, что значительно ниже предельно допустимой концентрации.

На 12-м месяце хранения все образцы меда соответствовали требованиям нормативных документов по всем показателям. Исключение составила диастазная активность в образцах подсолнечникового меда. Однако проведенный тест по изучению антимикробной активности меда в отношении *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* и *Bacillus cereus* продемонстрировал, что наибольшим ингибирующим действием обладали образцы, хранившиеся при 5 и 0 °С. Таким образом, данные температуры представляются оптимальными для хранения меда в течение длительного времени.

Полученные результаты могут быть использованы в качестве дополнительных рекомендаций при внесении изменений в нормативную документацию, регулирующую требования к хранению этого продукта.

Критерии авторства

Авторы в равной степени принимали участие в исследовании и оформлении рукописи.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Contribution

The authors contributed equally to the research and the manuscript.

Conflict of interests

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

Refences/Список литературы

1. Seraglio SKT, Schulz M, Brugnerotto P, Silva B, Gonzaga LV, Fett R, *et al.* Quality, composition and health-protective properties of citrus honey: A review. Food Research International. 2021;143:110268. https://doi.org/10.1016/J.FOODRES.2021.110268

2. Proaño A, Coello D, Villacrés-Granda I, Ballesteros I, Debut A, Vizuete K, *et al.* The osmotic action of sugar combined with hydrogen peroxide and bee-derived antibacterial peptide Defensin-1 is crucial for the antibiofilm activity of eucalyptus honey. LWT. 2021;136(2):110379. https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.110379

3. Bucekova M, Jardekova L, Juricova V, Bugarova V, di Marco G, Gismondi A, *et al.* Antibacterial activity of different blossom honeys: New findings. Molecules. 2019;24(8):1573. https://doi.org/10.3390/molecules24081573

4. Almasaudi S. The antibacterial activities of honey. Saudi Journal of Biological Sciences. 2021;28(4):2188–2196. https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2020.10.017

5. Ayoub WS, Ritu, Zahoor I, Dar AH, Farooq S, Mir TA, *et al.* Exploiting the polyphenolic potential of honey in the prevention of chronic diseases. Food Chemistry Advances. 2023;3:100373. https://doi.org/10.1016/j.focha.2023.100373

6. Alygizou A, Grigorakis S, Gotsiou P, Loupassaki S, Calokerinos AC. Quantification of hydrogen peroxide in cretan honey and correlation with physicochemical parameters. Journal of Analytical Methods in Chemistry. 2021;2021(1):5554305. https://doi.org/10.1155/2021/5554305

7. Brudzynski KA current perspective on hydrogen peroxide production in honey. A review. Food Chemistry. 2020; 332:127229. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.127229

8. Mohammed MEA, Alarjany W, Suleiman MHA, Al-Gramah HA. Hydrogen peroxide and dicarbonyl compounds concentration in honey samples from different botanical origins and altitudes in the South of Saudi Arabia. Current Research in Nutrition and Food Science. 2019;7(1):150–160. https://doi.org/10.12944/CRNFSJ.7.1.15

9. Kędzierska-Matysek M, Florek M, Wolanciuk A, Skałecki P. Effect of freezing and room temperatures storage for 18 months on quality of raw rapeseed honey (*Brassica napus*). Journal of Food Science and Technology. 2016;53(8):3349–3355. https://doi.org/10.1007/s13197-016-2313-x

10. Pasias IN, Raptopoulou KG, Makrigennis G, Ntakoulas DD, Lembessis D, Dimakis V, *et al.* Finding the optimum treatment procedure to delay honey crystallization without reducing its quality. Food Chemistry. 2022;381:132301. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2022.132301

11. Ribeiro GP, Villas-Bôas JK, Spinosa WA, Prudencio SH. Influence of freezing, pasteurization and maturation on Tiúba honey quality. LWT. 2018;90:607–612. https://doi.org/10.1016/j.lwt.2017.12.072

12. Braghini F, Biluca FC, Ottequir F, Gonzaga LV, da Silva M, Vitali L, *et al*. Effect of different storage conditions on physicochemical and bioactive characteristics of thermally processed stingless bee honeys. LWT. 2020;131:109724. https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.109724

13. Ji P, Liu X, Yang Ch, Wu F, Sun J, Cao W, *et al.* Natural crystallization properties of honey and seed crystals-induced crystallization process for honey performance enhancing. Food Chemistry. 2023;405:134972. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2022.134972

14. Villacrés-Granda I, Proaño A, Coello D, Debut A, Vizuete K, Ballesteros I, *et al*. Effect of thermal liquefaction on quality, chemical composition and antibiofilm activity against multiresistant human pathogens of crystallized eucalyptus honey. Food Chemistry. 2021;365(15):130519. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.130519

15. Besir A, Yazici F, Mortas M, Gul O. A novel spectrophotometric method based on Seliwanoff test to determine 5-(Hydroxymethyl) furfural (HMF) in honey: Development, in house validation and application. LWT. 2021;139:110602. https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.110602

16. Salhi I, Samet Y, Trabelsi M. Direct electrochemical determination of very low levels of 5-hydroxymethyl furfural in natural honey by cyclic and square wave voltammetric techniques. Journal of Electroanalytical Chemistry. 2020;837:114326.

17. Laolue P, Lerdsri J. Development of square wave voltammetry method using working electrodes modified with nickel oxide and carbon black for determination of 5-hydroxymethylfurfural in honey. Journal of Food Composition and Analysis. 2023;124:105699. https://doi.org/10.1016/j.jfca.2023.105699

18. Esenkina SN. Useful properties of buckwheat honey. Beekeeping. 2022;(2):50–51. (In Russ.). [Есенкина С. Н. Полезные свойства гречишного меда // Пчеловодство. 2022. № 2. С. 50–51.]. https://www.elibrary.ru/FMRAMY

19. Naumkin VP. Bees on buckwheat. Beekeeping. 2002;(5):20–21. (In Russ.). [Наумкин В. П. Пчелы на гречихе // Пчеловодство. 2002. № 5. С. 20–21.]. https://elibrary.ru/YOGKFP

20. Yakimov MV, Absalyamov RR, Yakimov DV. Influence of weather conditions on honey yield during flowering period of small-leaved linden in Udmurt republic. Forestry Bulletin. 2022;26(1):41–49. (In Russ.). https://doi.org/10.18698/2542-1468-2022-1-41-49; https://elibrary.ru/NHMMVT

21. Mazalov VI, Naumkin VP. Crop yield of new sunflower varieties and hybrids. Beekeeping. 2021;(6):24–25. (In Russ.). [Мазалов В. И., Наумкин В. П. Урожайность новых сортов и гибридов подсолнечника // Пчеловодство. 2021. № 6. С. 24–25.]. https://elibrary.ru/OLSGDL

22. Aganin AV. Honey studies. Saratov: Izdatel'stvo Saratovskogo universiteta; 1985. 152 p. (In Russ.). [Аганин А. В. Мед и его исследование. Саратов: Саратовский университет, 1985. 152 с.].

23. Flanjak I, Strelec I, Kenjerić D, Primorac L. Croatian produced unifloral honeys characterized according to the protein and proline content and enzyme activities. Journal of Apicultural Science. 2015;60(1):39–48. https://doi.org/10.1515/jas-2016-0005

24. Lobanov AV, Rubtsova NA, Vedeneeva YuA, Komissarov GG. Photocatalytic activity of chlorophyll in hydrogen peroxide generation in water. Doklady Chemistry. 2008;421(2):190–193. https://doi.org/10.1134/S0012500808080065

25. Burmistrov AN, Nikitina VA. Honey plants and their pollen. Moscow: Rosagropromizdat; 1990. 192 p. (In Russ.). [Бурмистров А. Н., Никитина В. А. Медоносные растения и их пыльца. М.: Росагропромиздат, 1990. 192 с.].

26. Karpovich I, Drebezgina E, Elovikova E, Legotkina G, Zubova E, Kuzyaev R, *et al.* Atlas of pollen grains. Ekaterinburg: Uralsky Rabochiy; 2015. 320 p. (In Russ.). [Карпович И. В., Дребезгина Е. С., Еловикова Е. А. Атлас пыльцевых зерен. Екатеринбург: Уральский рабочий, 2015. 320 с.].

27. Gruznova OA, Lobanov AV, Sokhlikov AB, Gruznov DV. Determination of the correlation between the content of 5-hydroxymethylfurfural and hydrogen peroxide in honey. Chemical Safety Science. 2022;6(2):215–226. (In Russ.). https://doi.org/10.25514/CHS.2022.2.23014

28. Bakier S. Characteristics of water state in some chosen types of honey found in Poland. Acta Agrophysica. 2006; 7(1):7–15.

29. Esenkina SN. The impact of negative temperatures on honey quality. Beekeeping. 2022;(3):49–50. (In Russ.). [Есенкина С. Н. Действие отрицательных температур на качество меда // Пчеловодство. 2022. № 3. С. 49–50.]. https://www.elibrary.ru/GMRNYZ

30. Krupyanskii YuF, Generalova AA, Kovalenko VV, Loiko NG, Tereshkin EV, Moiseenko AV, *et al.* DNA condensation in bacteria. Russian Journal of Physical Chemistry B. 2023;17(3):517–533. https://doi.org/10.1134/S1990793123030211

31. Chhawchharia A, Haines RR, Green KJ, Barnett TC, Bowen AC, Hammer KA. *In vitro* antibacterial activity of Western Australian honeys, and manuka honey, against bacteria implicated in impetigo. Complementary Therapies in Clinical Practice. 2022;49:101640. https://doi.org/10.1016/j.ctcp.2022.101640

32. Bucekova M, Godocikova J, Kohutova L, Danchenko M, Barath P, Majtan J. Antibacterial activity and bee-derived protein content of h oney as important and suitable complementary tools for the assessment of honey. Journal of Food Composition and Analysis. 2023;123:105610. https://doi.org/10.1016/j.jfca.2023.105610

33. Rahnama H, Azari R, Yousefi MH, Berizi E, Mazloomi SM, Hosseinzadeh S, *et al.* A systematic review and metaanalysis of the prevalence of *Bacillus cereus* in foods. Food Control. 2023;143:109250. https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2022.109250

34. Faúndez X, Báez ME, Martínez J, Zúñiga-López MC, Espinoza J, Fuentes E. Evaluation of the generation of reactive oxygen species and antibacterial activity of honey as a function of its phenolic and mineral composition. Food Chemistry. 2023;426:136561. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2023.136561

ISSN 2074-9414 (Print)
ISSN 2313-1748 (Online)

https://doi.org/10.21603/2074-9414-2024-2-2510
https://elibrary.ru/HYJQCX

Обзорная статья
https://fptt.ru

Эффективность комбинированного воздействия ультразвука и микроволн при обработке пищевых продуктов. Обзор

Л. Ч. Бурак[1,*], А. П. Завалей[2]

[1] *ООО «Белросаква», Минск, Республика Беларусь*

[2] *СООО «Ароматик», Дзержинск, Республика Беларусь*

Поступила в редакцию: 18.08.2023
Принята после рецензирования: 14.10.2023
Принята к публикации: 07.11.2023

**Л. Ч. Бурак: leonidburak@gmail.com, https://orcid.org/0000-0002-6613-439X*
А. П. Завалей: https://orcid.org/0000-0002-6565-5927

© Л. Ч. Бурак, А. П. Завалей, 2024

Аннотация.
Современные методы обработки пищевых продуктов на основе ультразвукового и микроволнового излучения находят широкое применение в пищевой промышленности. Цель исследования заключалась в анализе, систематизации и обобщении результатов научных публикаций по использованию комбинированных микроволново-ультразвуковых технологий для обработки пищевых продуктов.
Объектом исследования являлась научная литература на английском языке. Поиск проводили в библиографических базах Scopus и Web of Science, а также в других источниках. В качестве временных рамок для обзора научных публикаций приняли период 2010–2023 гг. Использовали такие научные методы, как поиск и скрининг научной литературы, извлечение данных, их анализ, систематизация и обобщение.
Проанализировали 85 научные статьи по использованию комбинированных микроволново-ультразвуковых технологий для обработки пищевых продуктов. Рассмотрели принципы и характеристики ультразвуковых и микроволновых методов обработки пищевых продуктов, их комбинирование, конструкцию оборудования и применение в обработке сырья и пищевых продуктов, таких как размораживание, сушка, экстракция и стерилизация. Под воздействием микроволн происходит увеличение скорости нагрева обрабатываемого продукта, а ультразвук повышает эффективность тепломассопереноса. Результаты исследования доказывают эффективность комбинированной обработки за счет сокращения времени обработки, улучшения качества продукции, стимулирования оттока влаги и улучшения равномерности микроволнового нагрева. Комбинированное воздействие микроволн и ультразвука повышает эффективность обработки, способствуя максимальному сохранению пищевой ценности и качества продукта. Ультразвуковая технология как вспомогательное средство эффективного микроволнового нагрева не загрязняет окружающую среду, она высокоэффективна и имеет широкий спектр применения в пищевой промышленности.
Результаты обзора могут быть использованы при проведении дальнейших исследований по оптимизации процессов экстракции, сушки, размораживания и стерилизации, а также специалистами пищевой промышленности при выборе оптимальных способов обработки пищевых продуктов.

Ключевые слова. Пищевые продукты, ультразвук, микроволны, обработка, размораживание, сушка, стерилизация, экстракция

Финансирование. Работа выполнена на базе Общества с ограниченной ответственностью «Белросаква» (ООО «Белросаква»).

Для цитирования: Бурак Л. Ч., Завалей А. П. Эффективность комбинированного воздействия ультразвука и микроволн при обработке пищевых продуктов. Обзор // Техника и технология пищевых производств. 2024. Т. 54. № 2. С. 342–357. https://doi.org/10.21603/2074-9414-2024-2-2510

https://doi.org/10.21603/2074-9414-2024-2-2510
https://elibrary.ru/HYJQCX

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

Combined Ultrasound and Microwave Food Processing: Efficiency Review

Leonid Ch. Burak[1,*], Andrey P. Zavaley[2]

[1] *Belrosakva LLC, Minsk, Republic of Belarus*

[2] *Aromatic JLLC, Dzherzhinsk, Republic of Belarus*

Received: 18.08.2023
Revised: 14.10.2023
Accepted: 07.11.2023

**Leonid Ch. Burak: leonidburak@gmail.com, https://orcid.org/0000-0002-6613-439X*
Andrey P. Zavaley: https://orcid.org/0000-0002-6565-5927

© L.Ch. Burak, A.P. Zavaley, 2024

Abstract.
Modern methods of food processing combine ultrasonic and microwave treatment. This article reviews scientific publications on combined microwave and ultrasound technologies in food processing.
The review involved standard methods of data analysis and covered 85 Scopus and Web of Science research papers on combined microwave and ultrasonic food treatment published in English in 2010–2023.
The article describes the principles and specific features of ultrasonic and microwave food processing methods, their combinations, equipment design, and applications as part of various food processing stages, e.g., defrosting, drying, extraction, sterilization, etc. Microwaves increase the heating rate while ultrasound increases the efficiency of heat and mass transfer. Their combined use reduces processing time, improves product quality, facilitates moisture drainage, and provides uniform heating. The combined effect of microwaves and ultrasound increases the processing efficiency, thus preserving the nutritional value and quality of the final product. Ultrasonic technology serves as an aid to efficient and environmentally-friendly microwave heating, which has a wide range of applications in the food industry.
The review can be used in further research in extraction, drying, defrosting, and sterilization. It can help food industry specialists to select optimal food processing methods.

Keywords. Food products, ultrasound, microwaves, processing, defrosting, drying, sterilization, extraction

Funding. The research was performed on the premises of Belrosakva LLC.

For citation: Burak LCh, Zavaley AP. Combined Ultrasound and Microwave Food Processing: Efficiency Review. Food Processing: Techniques and Technology. 2024;54(2):342–357. (In Russ.). https://doi.org/10.21603/2074-9414-2024-2-2510

Введение

Информация об использовании натуральных продуктов, отсутствии химических консервантов и применении современных технологий переработки, которые позволяют сохранить пищевую ценность продукта, свежий вкус и аромат, привлекает потребителей и определяет их покупательскую способность. Метод обработки пищевых продуктов должен быть экологичным, безопасным и эффективным для производства пищевых продуктов улучшенного качества с точки зрения приемлемости и пищевой ценности. Среди широкого спектра разработанных методов перспективными являются методы обработки на основе микроволнового и ультразвукового излучения [1–3]. В последнее десятилетие было опубликовано много исследовательских работ по размораживанию, сушке, жарке и стерилизации пищевых продуктов, а также экстракции ингредиентов с использованием микроволновых и ультразвуковых методов [4].

Ультразвуковые волны, используемые в пищевой промышленности, можно разделить на классы низкой и высокой интенсивности. Ультразвуковые волны низкой интенсивности или высокой частоты имеют частоту более 100 кГц и интенсивность менее 1 Вт/см^2. Они определяются как диагностические волны из-за их способности оценивать структуру и физико-химические свойства пищевого продукта как во время обработки, так и хранения [5]. Высокоинтенсивные и низкочастотные ультразвуковые волны имеют частотный диапазон от 20 до 100 кГц, а интенсивность от 10 до 1000 Вт/см^2.

В отличие от низкоинтенсивного волнового излучения ультразвуковое излучение вызывает изменения физических, биохимических и механических свойств пищевых продуктов [6]. Взаимодействие между ультразвуковыми волнами и средой приводит к возникновению тепловых, механических и кавитационных эффектов. Ультразвуковые волны передаются через вибрацию

материала, во время которой энергия непрерывно поглощается материалом и выделяет большое количество тепла. Механический эффект способствует образованию эмульсий, разжижению гелей или диспергированию твердых частиц. Радиационное давление ультразвуковых волн сжимает и растягивает пищевой материал, что вызывает его непрерывную усадку или расширение. Эффект кавитации наблюдается при обработке жидких пищевых продуктов или пищевых продуктов с высоким содержанием влаги ультразвуковыми волнами. В этих материалах во время ультразвуковой обработки образуются пузырьки воздуха. Эти пузырьки набухают и сжимаются, когда ультразвуковое акустическое давление положительно или отрицательно во время распространения ультразвуковых волн соответственно. В течение нескольких циклов пузырьки увеличивают свой объем, пока не лопнут с выделением энергии [6, 7].

Микроволны – это электромагнитные волны с длиной волны в диапазоне от 1 мм до 1 м. Когда пищевые продукты обрабатываются микроволновым излучением, то материал поглощает микроволновую энергию и преобразует ее в тепловую энергию посредством миграции ионов и вращения дипольных молекул. То есть полярные молекулы продукта, особенно воды, диэлектрически поляризуются переменными микроволновыми электромагнитными полями. Из-за частого изменения направления электромагнитного поля полярные молекулы быстро вращаются. Это вызывает столкновение и трение между этими молекулами, тем самым выделяя тепло. Положительные и отрицательные ионы перестраиваются в зависимости от направления изменения электромагнитного поля [9]. Сегодня микроволновая обработка используется в пищевой промышленности для таких целей, как нагрев, размораживание, сушка и стерилизация [9–12]. Во время микроволновой обработки пищевых продуктов микроволны генерируются двигателем, таким как полупроводниковое микроволновое устройство или магнетрон. Затем эти микроволны передаются по волноводу и воздействуют на пищевой материал. Микроволны не требуют среды передачи, что снижает потери энергии. Сегодня микроволны с частотами 2450 и 915 МГц используются в промышленности, науке и медицине. Благодаря таким преимуществам, как незначительные потери энергии при передаче, высокая проникающая способность и способность передавать достаточное количество энергии для нагрева пищевых материалов, микроволновую технологию применяют для обработки продуктов питания. Недостатком обработки микроволнами является неравномерность нагрева. По этой причине микроволновую обработку пищевых продуктов используют в комбинации с другими методами, такими как ультразвуковая обработка. Когда пища обрабатывается этими методами одновременно, то микроволновая и ультразвуковая энергия выделяют тепло и способствуют тепло- и массопереносу [13]. Результаты исследований доказывают синергетическую эффективность обработки за счет сокращения времени обработки, улучшения качества продукции, стимулирования оттока влаги и улучшения равномерности микроволнового нагрева. В последнее десятилетие во многих исследованиях сообщается о синергическом эффекте микроволновых и ультразвуковых методов при размораживании, сушке, обжаривании, извлечении пищевых ингредиентов и обработке жидких пищевых продуктов [14–16].

Цель статьи – обзор научных исследований в области комбинированных микроволново-ультразвуковых технологий для обработки пищевых продуктов, включая размораживание, сушку, экстракцию и обработку жидких пищевых продуктов, а также изучение влияния комбинированных микроволново-ультразвуковых методов на обработку пищевого сырья и качество конечных продуктов. Эта статья призвана предоставить будущим исследователям информацию о разработке новых методов обработки пищевых продуктов, основанных на сочетании микроволновых и ультразвуковых методов.

Объекты и методы исследования

Объектом исследования являлись 85 статьи. Поиск научной литературы на английском языке по использованию комбинированных микроволново-ультразвуковых технологий для обработки пищевых продуктов проводили в библиографических базах Scopus и Web of Science, а также в других источниках. В качестве временных рамок для обзора научных публикаций был приняли период 2010–2023 гг. При выполнении работы использовали такие научные методы, как поиск и скрининг научной литературы, извлечение данных, их анализ, систематизация и обобщение. При отборе публикаций для обзора приоритет отдавали высокоцитируемым источникам. Для обзора предметного поля проведенного исследования использовали алгоритм в соответствии с протоколом PRIZMA. Составили схему проведения исследования.

Критерии включения и исключения источников. Для поисковых запросов в зарубежных базах данных Scopus и Web of Science использовали следующие ключевые слова и словосочетания на английском языке: food products, method, ultrasound, microwaves, processing, defrosting, drying, sterilization, extraction.

Критерии включения и исключения для статей, подлежащих анализу, были следующими. Критерии включения: статья написана в период 2010–2023 гг.; статья соответствует теме исследования; типы анализируемых статей – оригинальные исследовательские статьи, обзорные статьи, краткие отчеты. Критерии исключения: статья не соответствует теме данного обзора: не касается тематики комбинированных микроволново-ультразвуковых технологий для обработки пищевых продуктов, включая размораживание, сушку, экстракцию и обработку жидких пищевых продуктов, а также влияния комбинированных микроволново-ультразвуковых методов на обработку пищевого сырья и качество конечных продуктов; статья написана не на английском языке; содержание статьи дублируется. Если из разных

баз данных или электронных библиотечных систем были извлечены повторяющиеся источники, то их классифицировали только один раз.

Анализ и систематизация данных. Результаты анализа были представлены в виде таблиц и диаграмм для визуализации данных. Для обзора предметного поля проведенного исследования использовали алгоритм в соответствии с протоколом PRIZMA (https://www.acpjournals.org/doi/10.7326/M18-0850) и составили схему проведения исследования (рис. 1).

Результаты и их обсуждение

Ультразвуковая и микроволновая техника размораживания. Пищевые продукты замораживают для хранения и транспортировки, а затем подвергают разморозке перед употреблением. Метод размораживания влияет на качество размороженных продуктов, а именно на пищевую ценность и текстуру. Обычно пищевые продукты размораживают на воздухе, в воде, вакууме, холодильнике и т. д. Однако эти процессы могут привести к потере влаги, деградации питательных веществ и снижению водоудерживающей способности пищевого материала. Пищевые продукты могут быть заражены пищевыми микроорганизмами в результате длительного процесса оттаивания [17].

Микроволновая обработка может повысить эффективность размораживания пищевых продуктов. Микроволновая энергия поглощается замороженным материалом и преобразуется в тепло. Это сводит к минимуму потери энергии во время обработки и эффективно сокращает время оттаивания. Микроволновая обработка также инактивирует пищевые микроорганизмы, изменяя структуру их белков. Однако, как установлено в ходе исследований, при использовании только микроволновой энергии во время оттаивания замороженных продуктов происходит неконтролируемый нагрев продуктов и термическая денатурация белков [18–20].

Замороженные пищевые продукты также можно размораживать ультразвуковой обработкой на водяной бане. Физическое воздействие ультразвука может повышать температуру воды и создавать высокоскоростные струи во время процесса ультразвукового оттаивания. Затем эти высокоскоростные струи вызывают схлопывание пузырьков воздуха в воде для улучшения теплопередачи. Поэтому процесс размораживания ускоряется, что положительно влияет на качество пищи. Благодаря разработке и оптимизации процесса ультразвукового оттаивания замороженные пищевые продукты можно размораживать равномерно. Плохая проницаемость ультразвуковых волн, длительное время оттаивания и высокие энергозатраты являются недостатками этого метода и препятствуют его широкому применению [21–23].

На сегодняшний день были разработаны методы оттаивания, которые сочетают микроволновую и ультразвуковую энергию. Эта комбинация повышает эффективность метода ультразвукового оттаивания и позволяет избежать неравномерного нагрева и/или перегрева, вызванного методом микроволнового оттаивания [24, 25].

Конструкция оборудования для ультразвукового и микроволнового размораживания. Для развития технологии комбинированной микроволново-ультразвуковой разморозки исследователи пытаются разработать более инновационное и многофункциональное оборудование для комбинированного микроволново-ультразвукового оттаивания. Принципиальная схема оборудования для ультразвукового и микроволнового



Рисунок 1. Блок-схема, которая описывает процесс выбора исследования в соответствии с протоколом PRISMA

Figure 1. PRISMA protocol for research selection

оттаивания, разработанная L. Cai и др., состоит из томографической камеры, системы микроволнового нагрева, ультразвуковой системы и системы управления [15]. В томографическую камеру с температурой 4 °C помещали ультразвуковой очиститель и микроволновый генератор. Затем ёмкость с замороженными продуктами помещали в ультразвуковой очиститель. Этот контейнер был изготовлен из полиэтилена, который является неполярным изоляционным материалом с низкой термостойкостью и низкими диэлектрическими потерями. Во время оттаивания замороженных продуктов микроволновый магнетрон работал на частоте 2450 МГц над ультразвуковым очистителем, а положение отверстия для микроволнового излучения регулировалось в соответствии с положением контейнера. Датчик температуры был вставлен в центр продукта для контроля его температуры в режиме реального времени во время оттаивания [15].

Размораживание продуктов с использованием метода ультразвукового и микроволнового размораживания. Результаты исследований свидетельствуют о повышении эффективности размораживания и улучшении качества размороженных продуктов с точки зрения свежести, белковой структуры, микроструктуры и стабильности липидов в пищевых продуктах, размороженных с использованием метода размораживания в микроволновой печи с помощью ультразвука. С помощью этого нового метода L. Cai и др. размораживали филе окуня и красной барабанной рыбы [15, 24]. По сравнению с филе, размороженным с использованием методов микроволнового и ультразвукового оттаивания, филе, размороженное с помощью комбинированной технологии ультразвукового и микроволнового оттаивания, показало улучшенное удержание внутриклеточной воды. Совместное использование ультразвукового и микроволнового оттаивания привело к меньшему повреждению ткани мышечных волокон и нежелательным изменениям структуры белка во время оттаивания. Благодаря повышенной эффективности размораживания произошло ингибирование процесса окисления липидов. Результаты органолептического анализа показали, что свежесть филе, размороженного с помощью ультразвукового и микроволнового размораживания, была схожа с показателями свежей рыбы. M.-M. Zhu и др. в ходе исследования установили, что свинина, размороженная с помощью комбинированного микроволнового и ультразвукового метода, показала более высокую растворимость белка, чем свинина, полученная путем размораживания в микроволновой печи. Это свидетельствует об улучшении качества размороженного мяса [26].

Ультразвуковая и микроволновая сушка. Микроволновая сушка – это сушка с диэлектрическим нагревом. Она является одним из наиболее эффективных доступных методов сушки благодаря объемному нагреву материалов. Технология микроволновой сушки применяется для сушки фруктов и овощей, зерна, мяса и других продуктов, которым необходимо продлить срок хранения [27–29]. Хотя метод микроволновой сушки имеет преимущество высокой сушки и энергоэффективности, этот метод связан с неравномерной сушкой и локальным перегревом/обугливанием пищевых материалов. Для решения этой проблемы был внедрен ультразвуковой метод, поскольку кавитация и механическое воздействие ультразвуковых волн могут эффективно снизить сопротивление диффузии влаги, улучшить тепло- и массообменную способность и свести к минимуму неравномерный нагрев [30]. Пищевое сырье либо предварительно обрабатывают ультразвуковыми волнами с последующей сушкой в микроволновой печи, либо высушивают при комбинированном воздействии ультразвуковой и микроволновой энергии. Предварительная ультразвуковая обработка может выполняться либо в ультразвуковой ванне, либо в ультразвуковом аппарате на основе зонда [31, 32]. Ультразвуковая ванна чаще используется исследователями, т. к. после обработки и последующей сушки сушеное сырье имеет большую однородность по сравнению с использованием ультразвукового зонда.

Влияние микроволновой сушки с ультразвуковой предварительной обработкой на качество сушеных продуктов. *Цвет.* Ультразвуковая обработка образцов пищевых продуктов перед микроволновой сушкой может улучшить цветовой профиль конечных высушенных продуктов. По сравнению с исходными пищевыми продуктами перед сушкой краснота/зеленость (a^*), синева/желтизна (b^*) и общее изменение цвета (ΔE) продуктов, высушенных в микроволновой печи, увеличиваются из-за ферментативных и неферментативных реакций потемнения [33]. В процессе применения ультразвуковой-микроволновой сушки (УЗМС) более короткое время сушки и ее более низкая температура подавляют реакции потемнения [34]. Y. Zhao и др. сообщили об эффективности сохранения цвета высушенных семян лотоса при использовании комбинированного метода ультразвуковой-микроволновой сушки по сравнению с высушиванием только в микроволновой печи [34]. Увеличение мощности и времени ультразвуковой обработки негативно влияло на цвет из-за повреждения клеточной структуры и высвобождения пигмента [28, 35].

Пищевая ценность. Содержание питательных веществ в высушенных образцах является решающим параметром качества для оценки пригодности методов сушки. Восприимчивые биологически активные соединения в пище, такие как фенолы, флавоноиды и антоцианы, легко разлагаются во время сушки в микроволновой печи [30]. Благодаря использованию предварительной обработки ультразвуком время микроволновой сушки пищевых материалов сокращается, что может уменьшить окислительную деградацию этих соединений. Ультразвуковая обработка разрушает клеточную структуру в образцах пищевых продуктов, способствуя высвобождению активного вещества из

клеток во время экстракции. Следовательно, предварительная ультразвуковая обработка может увеличить содержание этих соединений за счет повышения эффективности их экстракции [36]. L. Li и др. установили, что комбинированный метод ультразвуковой-микроволновой сушки увеличивает общее содержание фенолов и флавоноидов в батате на 29,03 и 29,73 % соответственно по сравнению с бататом, высушенным в микроволновой печи [37]. Однако противоположная тенденция была установлена в исследовании L. Li и др., где содержание фенольных, флавоноидных и антоциановых активных веществ в фасоли, высушенной УЗМС, было ниже, чем в фасоли, высушенной в микроволновой печи [28]. Это произошло потому, что предварительная обработка ультразвуком способствовала высвобождению, растворению и потере этих соединений в ультразвуковой водяной ванне. Предварительная обработка ультразвуком может способствовать протеолизу. Об этом свидетельствуют результаты сушки семян лотоса, высушенные комбинированным методом ультразвуковой-микроволновой сушки, где определено более высокое содержание свободных аминокислот, чем у семян, высушенных в микроволновой печи [38]. Результаты некоторых исследований влияния предварительной обработки ультразвуком на качество продуктов, высушенных в микроволновой печи, представлены в таблице 1.

Технологический процесс комбинированной ультразвуковой-микроволновой сушки. Для сушки пищевого сырья и продуктов разработано различное оборудование, сочетающее ультразвуковую и микроволновую энергию. Ультразвуковая-микроволновая сушилка состоит из системы ультразвуковой обработки (частота > 20 кГц), микроволновой системы (частота 2450 МГц), сушильной камеры и системы управления [13, 14, 50]. В этих конструкциях используется бесконтактная система ультразвуковой обработки, где в качестве среды передачи используется воздух, чтобы избежать эрозии и загрязнения пищевых материалов. Мощность ультразвука и микроволн можно регулировать отдельно с помощью системы программируемого логического контроллера [51]. В качестве примеров исследований результатов комбинированной ультразвуковой-микроволновой сушки можно привести работы по сушке ломтиков яблок, *Tremella fuciformis*, семян лотоса, малины и зеленого перца [2, 13, 52–54]. Процесс комбинированной сушки показал эффективное действие на качественные показатели сушеной продукции, сохранение цвета и пищевой ценности.

В процессе комбинированной ультразвуковой-микроволновой сушки под действием микроволновой энергии продукт нагревается, а высокочастотный ультразвук способствует удалению влаги, что улучшает тепло- и массообмен материалов при сушке и ускоряет ее [52]. В исследовании J. Xu и др. в ходе комбинированной ультразвуковой-микроволновой сушки *T. fuciformis* было снижено время на 42,86 %, по сравнению с методом микроволновой сушки и предварительной обработкой ультразвуком, а эффективный коэффициент диффузии влаги увеличился с $1{,}72\times10^{-5}$ до $2{,}28\times10^{-5}$ м^2/с [13]. Когда мощность микроволн постоянна, то увеличение мощности ультразвука может повысить эффективность сушки за счет снижения сопротивления массопереносу в пищевых материалах как на поверхности, так и на их внутренних участках при повышенной мощности ультразвука. Результаты исследования сушки яблок, высушенных различными методами сушки, показали, что время сушки УЗМС сократилось на 29,8 % по сравнению со временем сушки в микроволновой печи [54].

Сокращение времени сушки пищевого сырья комбинированной ультразвуковой-микроволновой сушкой способствует сохранению цвета и структуры, что подтверждалось при сушке яблок и перца [2, 14, 50]. Однако противоположная тенденция была отмечена S. J. Kowalski и др. [54]. Авторы заметили, что процесс комбинированной ультразвуковой-микроволновой сушки вызвал относительно высокую усадку ягод малины из-за изменения их структуры под действием микроволнового излучения.

Пищевые продукты, высушенные с использованием комбинированного метода ультразвуковой-микроволновой сушки, сохранили исходное содержание многих питательных веществ. Сокращение времени сушки способствует снижению разрушения и окисления питательных веществ. Lei и др. установили, что метод комбинированной ультразвуковой-микроволновой сушки снизил потери общего количества сахаров, фенолов и общего количества антиоксидантов в сушеных грибах. Аналогичные результаты были получены J. Xu и др., где процесс сушки комбинированным методом ультразвуковой-микроволновой сушки позволил сохранить содержание сахаров и белка [13]. В исследовании J. Szadzinska и др. содержание витамина С в зеленом перце, высушенном с помощью комбинированной ультразвуковой-микроволновой сушки, было увеличено на 19,6 % по сравнению с высушенным в микроволновой печи [2]. Однако мощность ультразвуковой и микроволновой энергии в процессе комбинированной ультразвуковой-микроволновой сушки должна быть оптимизирована, чтобы избежать разрушения биоактивных соединений под тепловым воздействием ультразвука и микроволн. В исследовании авторов J. Zhang и др., когда мощность ультразвука была увеличена с 200 до 300 Вт, общее содержание фенолов и флавоноидов в сушеных китайских орехах гикори, высушенных комбинированной ультразвуковой-микроволновой сушкой, снизилось до 11,9 мг GAE/г DW и с 12,4 до 9,7 мг GAE/г DW соответственно [30].

Ультразвуковая и микроволновая экстракция (УЗМЭ). Комбинированный метод ультразвуковой-микроволновой экстракции способствует улучшению процесса извлечения пищевых ингредиентов за счет сочетания преимуществ методов микроволновой и ультразвуковой экстракции, таких как быстрый нагрев и улучшенный тепло- и массоперенос. Повышение

Таблица 1. Влияние предварительной обработки ультразвуком на качество продуктов, высушенных в микроволновой печи

Table 1. Effect of ultrasonic pre-treatment on the quality of microwave-dried products

Наименование сырья	Вид ультразвука	Параметры обработки ультразвуком	Время предварительной обработки, мин	Метод сушки	Мощность микроволн	Основные результаты	Источник
Семена лотоса (*Nelumbo*)	Ультразвуковой зонд	0,29, 0,40 и 0,51 Вт/мл	10	Микроволновая вакуумная сушка	15 Вт/г	Температура стеклования и содержание аминокислот в предварительно обработанных ультразвуком семенах лотоса могут быть увеличены. Температура желатинизации и ферментативное потемнение снизились	[38]
Томат (*Solanum lycopersicum*)	Ультразвуковая водяная баня	0,011 Вт/мл	0, 20 и 40	Сушка горячим воздухом в микроволновой печи	120, 150 и 180 Вт	Предварительно обработанные ультразвуком ломтики помидоров показали повышенную регидратационную способность и увеличенное содержание ликопина, общего фенола и витамина С	[35]
Картофель (*Solanum tuberosum*)	Ультразвуковая водяная баня	40 кГц	0, 10, 20 и 30	Сушка горячим воздухом в микроволновой печи	360, 600 и 900 Вт	Процесс предварительной обработки ультразвуком может сократить время сушки. Значение эффективного коэффициента диффузии влаги (D_{eff}) высушенного образца увеличивалось с повышением времени ультразвуковой обработки	[39]
Морковь (*Daucus carota* subsp. *sativus*)	Ультразвуковая водяная баня	180 Вт, 21 кГц, 250 Вт, 24 кГц	20	Сушка горячим воздухом в микроволновой печи	200 Вт	Предварительная ультразвуковая обработка помогла улучшить кинетику сушки горячим воздухом в микроволновой печи и качество моркови, а также снизить степень потери каротиноидов	[40]
Сладкий картофель (*Ipomoea batatas*)	Ультразвуковая водяная баня	25 кВт/м^3, 40 кГц	30	Микроволновая вакуумная сушка	22 Вт/г	Сладкий картофель сушили в соответствии с процессом вакуумной сушки с помощью ультразвука. Были достигнуты высокая скорость расширения, меньшая цветовая разница и степень повреждения клеток. Эффективность сушки может быть повышена	[41]
Закуски из клюквы (*Vaccinium oxycoccus*)	Ультразвуковая водяная баня	180 Вт, 21 кГц	30	Микроволновая вакуумная сушка	150 Вт	Процесс предварительной ультразвуковой обработки не улучшил кинетику сушки клюквенных снеков. Предварительно обработанные ультразвуком образцы показали лучший внешний вид и более высокую антиоксидантную активность, чем необработанные образцы	[42]
Клубника (*Fragaria* × *ananassa*)	Ультразвуковая водяная баня	180, 240 и 300 Вт	15	Сублимация в микроволновой печи	1,5–2,5 Вт/г	Различные проникающие растворы показали разный эффект высыхания. Ультразвуковая предварительная обработка помогла повысить эффективность сушки и питательную ценность сублимированной клубники, а также улучшить текстуру	[43]

Продолжение таблицы 1.

Наименование сырья	Вид ультразвука	Параметры обработки ультразвуком	Время предварительной обработки, мин	Метод сушки	Мощность микроволн	Основные результаты	Источник
Листья петрушки (*Petroselinum crispum*)	Ультразвуковая водяная баня	300 Вт, 21 кГц	20	Конвективная сушка в микроволновой печи	100 и 300 Вт	Процесс предварительной ультразвуковой обработки положительно повлиял на кинетику сушки, энергозатраты, содержание хлорофилла и лютеина, а также на цвет листьев петрушки, высушенных в микроволновой печи	[44]
Клюква (*Vaccinium oxycoccus*)	Ультразвуковая водяная баня	35 и 130 кГц	10–80	Сушка горячим воздухом в микроволновой печи	180 и 300 Вт	Процесс предварительной обработки с помощью ультразвука помог удалить внутреннюю влагу образца. Это помогло сохранить цвет образца. Однако по мере увеличения мощности ультразвука структура образца разрушалась, а цвет ухудшался	[45]
Оливки (*Olea Europea*)	Ультразвуковая водяная баня	25 кГц, 150 Вт	5 и 10	Сушка в микроволновой печи	180, 450 и 800 Вт	Микроволновая сушка с помощью ультразвука позволяет получить ломтики оливок с лучшим питательным составом, внешним видом и физическими свойствами за более короткое время сушки	[46]
Фасоль (*Phaseolus vulgaris* L.)	Ультразвуковая водяная баня	0, 100, 200 и 300 Вт	25	Сушка в микроволновой печи	–	Предварительная обработка ультразвуком улучшила эффективность сушки и физические свойства образцов, а также способствовала образованию пористых структур в высушенных бобах. Ультразвук способствовал гидролизу белка. Содержание свободных аминокислот увеличилось на 3,69–11,4 %	[28]
Плоды боярышника (*Crataegus aronia*)	Ультразвуковая водяная баня	37 кГц, 70 Вт	20	Сушка горячим воздухом в микроволновой печи	450 Вт	По сравнению с боярышником, высушенным горячим воздухом, горячим воздухом в микроволновой печи и методами инфракрасной сушки, сушка горячим воздухом в микроволновой печи с помощью ультразвука показывает более короткое время сушки, низкую скорость усадки, незначительное изменение цвета и улучшение питательного состава	[47]
Девясил вискозный (*Inula viscosa* L.)	Ультразвуковая водяная баня	37 кГц, 150 Вт	10, 20 и 30	Сушка в микроволновой печи	100, 180 и 300 Вт	Антиоксидантная активность образцов, высушенных методом СВЧ-сушки, проявляла наибольший уровень при времени ультразвуковой обработки 30 мин. Более высокая мощность микроволн увеличивает потерю содержания хлорофилла и каротиноидов	[48]
Киви (*Actinidia deliciosa*)	Ультразвуковая водяная баня	28 кГц, 70 Вт	10, 20 и 30	Сушка в микроволновой печи	100, 200 и 300 Вт	Влияние различной мощности микроволн и времени предварительной обработки ультразвуком на качество и тепловые свойства киви исследовали с использованием методологии поверхности отклика. С увеличением мощности микроволн и времени предварительной обработки ультразвуком время сушки и энергопотребление демонстрируют тенденцию к снижению	[49]

эффективности извлечения активных компонентов происходит за счет синергетического действия микроволнового и ультразвукового излучения, которое вызывает разрушение структуры клеточных тканей. Во время процесса комбинированной ультразвуковой-микроволновой экстракции микроволновая энергия поглощается материалами и сопровождается активным выделением тепла [55]. Это вызывает испарение влаги из внутренней части материала и давление на клеточную стенку, в результате чего клеточные стенки разрываются, и молекулы-мишени высвобождаются из клетки [56]. Схлопывание кавитационных пузырьков, образованных ультразвуковыми волнами, обеспечивает энергию для эффективного смешивания экстракционного растворителя и пищевых материалов. По сравнению с микроволновой и ультразвуковой экстракциями комбинированный метод ультразвуковой-микроволновой экстракции обладает такими преимуществами, как увеличение производительности и эффективности экстракции, а также улучшенными свойствами биологически активных соединений [57]. Сегодня комбинированной метод ультразвуковой-микроволновой экстракции применяется для извлечения широкого спектра ингредиентов из пищевого сырья и материалов, включая

1. Пищевое сырье из отходов агропродовольственного сектора. Например, для экстракции фенольных антиоксидантов из винных виноградных выжимок и отходов кожуры джекфрута, пектина из промышленных отходов томатов и флавоноидов из кожуры китайского водяного каштана [58–61];

2. Антиоксиданты из свежих фруктов и овощей, такие как экстракция ликопина из томатов и антоцианов из черноплодной рябины [62, 63];

3. Основные вещества из семян, орехов и зерен, такие как экстракция масла из семян чая и фенольных соединений из грецкого ореха [64];

4. Биологически активные соединения из других пищевых материалов, включая китайские лекарственные травы и растения-грибы, такие как экстракция полисахаридов из *Inonotus obliquus* и *Ganoderma lucidum* [65, 66].

Во время комбинированной ультразвуковой-микроволновой экстракции на сырье одновременно воздействуют микроволны и ультразвук. Мощность этих энергий можно регулировать в соответствии с температурой образца в реальном времени. Кроме того, для минимизации потерь растворителя можно установить блоки конденсации флегмы.

Влияние комбинированной ультразвуковой-микроволновой экстракции на извлечение и качество пищевых ингредиентов. Выход и эффективность экстракции являются ключевыми характеристиками метода экстракции. По сравнению с микроволновой и ультразвуковой экстракциями комбинированный метод ультразвуковой-микроволновой экстракции повышает выход экстракта нескольких ингредиентов, таких как антиоксидантные вещества, пектин и олигосахариды. H. Sun и др. экстрагировали противораковые полисахариды из плодов *Camptotheca acuminata* с использованием комбинированной ультразвуковой-микроволновой экстракции и других методов экстракции, включая микроволновую и ультразвуковую. Среди этих методов экстракции комбинированный процесс ультразвуковой-микроволновой экстракции привел к наивысшему выходу экстракта при использовании того же времени экстракции (20 мин) [67]. Аналогичная тенденция была отмечена в исследовании B. Hu и др., где пектин был извлечен из кожуры джекфрута с использованием методов УЗМЭ, микроволновой и ультразвуковой экстракции. Кроме того, результаты исследования эфирных масел, извлеченных из порошка перца, показали, что наибольшее количество эфирного масла было получено за более короткое время экстракции с использованием комбинированной ультразвуковой-микроволновой экстракции по сравнению с микроволновой и ультразвуковой экстракцией [64, 68].

Выход экстракции биоактивных ингредиентов с использованием комбинированной ультразвуковой-микроволновой экстракции может варьироваться. Это зависит от многих параметров, таких как мощность ультразвука и микроволнового излучения, соотношение жидкости и твердого вещества, время экстракции. Выход чувствительных биоактивных ингредиентов к экстракции увеличивается с повышением мощности микроволн и ультразвука. Однако эти соединения могут разлагаться при очень высокой мощности микроволнового и ультразвукового излучения [69]. Аналогичным образом оптимальное время экстракции может обеспечить максимальный выход экстракта, а дальнейшее увеличение диапазона времени процесса экстракции приводит к разрушению биологически активных соединений и снижению качества экстракта [70]. В исследованиях B. Liu и др., C. Liu с соавторами и X. Liu и др. масло грецкого ореха экстрагировали диметилкарбонатом, петролейным эфиром и растворителем для смешивания *н*-гексана с использованием комбинированной ультразвуковой-микроволновой экстракции при различных соотношениях жидкости и твердой фазы. Данные авторы сообщили об увеличении выхода экстракта при повышении соотношения твердой и жидкой фаз. Однако избыток растворителя привел к снижению выхода экстракта из-за ухудшения поглощения микроволновой энергии [71–73]. Чтобы оптимизировать параметры экстракции процесса комбинированной ультразвуковой-микроволновой экстракции для планирования экспериментов можно использовать метод поверхности отклика.

Биоактивные вещества, экстрагированные методом комбинированной ультразвуковой-микроволновой экстракции, были более высокого качества, чем ингредиенты, полученные с использованием микроволн или ультразвука. В исследовании A. A. Mahdi и др. 67 фенольных соединений были извлечены из цитрона комбинированным методом ультразвуковой-микро-

волновой экстракции [74]. Они проявили более высокую антиоксидантную активность, чем соединения, извлеченные с помощью микроволновой и ультразвуковой экстракции. Было проведено исследование влияния различных методов экстракции на антиоксидантную активность и состав эфирных масел, извлеченных из черного и белого перца. Результат показал, что эфирные масла, экстрагированные с помощью комбинированной ультразвуковой-микроволновой экстракции, обладают более высокой активностью по удалению супероксидных радикалов и более высоким содержанием монотерпена и сесквитерпена, чем эфирные масла, экстрагированные другими методами. С одной стороны, выход фенольных и флавоноидноидных соединений, извлекаемых с помощью комбинированной ультразвуковой-микроволновой экстракции, выше, чем при ультразвуковой и микроволновой экстракции. С другой стороны, более короткое время экстракции с использованием комбинированной ультразвуковой-микроволновой экстракции сокращает время воздействия микроволн на экстракт и препятствует структурному повреждению и деградации биоактивных веществ [70, 75].

Обработка жидких пищевых продуктов методом ультразвуковой и микроволновой стерилизации (УЗМСТ). Энергия микроволн использовалась для обеззараживания пищевых микроорганизмов и уничтожения спор. Из-за короткого времени стерилизации этот процесс практически не влияет на качество продуктов и их пищевую ценность. Микроволны и ультразвук используются для стерилизации. Во время обработки ультразвуковые волны вызывали быстрое образование и разрушение пузырьков в продукте. Этот кавитационный эффект способствует высвобождению ударных волн с высокими температурами и давлением в локальной области в течение короткого периода времени (< 100 нс) для инактивации микроорганизмов.

Комбинированный метод ультразвуковой-микроволновой стерилизации был разработан для объединения преимуществ методов микроволновой и ультразвуковой стерилизации [76]. Технология комбинированной ультразвуковой-микроволновой стерилизации может улучшить неравномерный нагрев технологии микроволновой стерилизации и повысить температуру и эффективность ультразвуковой стерилизации [71]. В процессе комбинированной ультразвуковой-микроволновой стерилизации пищевые продукты обрабатываются одновременно ультразвуковой и микроволновой энергией для инактивации микроорганизмов. Сегодня эта технология успешно применяется для стерилизации соковой продукции. По сравнению с традиционными технологиями стерилизации (микроволновая и ультразвуковая) комбинированная ультразвуковая-микроволновая стерилизация характеризуется продолжительностью стерилизации и незначительным влиянием на качество сока.

B. H. Samani и др. подвергли обработке вишневый сок с использованием методов УЗМСТ, микроволновой и ультразвуковой стерилизации. Результат показал, что пастеризованный комбинированным методом ультразвуковой-микроволновой стерилизации сок имел низкое количество *Escherichia coli* и *Saccharomyces cerevisiae* и высокое содержание витаминов, общих фенолов и соединений антоцианов [77]. M. J. Das и др. установили, что комбинированный метод ультразвуковой-микроволновой стерилизации улучшил инактивацию *Listeria monocytogenes* в соке тыквы в бутылках по сравнению с обычными методами стерилизации. Ученые обнаружили, что время ультразвука и микроволновая температура положительно коррелируют с эффективностью инактивации [78]. Последовательное воздействие ультразвуковых волн и микроволн положительно влияет на стерилизацию жидкостей. O. N. Kernou и др. предварительно обрабатывали апельсиновый сок ультразвуковыми волнами в течение разного времени (от 5 до 60 мин) перед микроволновой стерилизацией при мощности микроволн 300, 600 и 900 Вт в разное время в течение 5 и 35 с. Ученые заметили, что этот способ улучшил эффективность инактивации *E. coli* ATCC 25922 по сравнению с микроволновой стерилизацией [16]. Ультразвуковая обработка сока ежевики проводилась после бланширования в микроволновой печи в исследовании B. Pérez-Grijalva и др. Установлено снижение уровня микроорганизмов и сохранение большего количества антиоксидантов, таких как антоцианы и фенольные соединения [79].

Ограничения и перспективы использования ультразвуковой и микроволновой технологии обработки пищевых продуктов. Необходимо отметить работы российских ученых И. А. Шортского в соавторстве с другими исследователями о влиянии импульсного электрического поля и импульсной микроволновой обработки на морфологические и структурные характеристики семян подсолнечника, об экстракции семян подсолнечника с помощью импульсных электрических полей, о применении обработки импульсным электрическим полем для повышения выхода продукта и эффективности биоактивных соединений за счет экстракции из кожуры при переработке киви и другие исследования, которые посвящены использованию импульсного электрического поля в качестве предварительной обработки перед сушкой или проведением процесса экстракции [80–85]. Научных публикаций российских авторов по использованию комбинированных микроволново-ультразвуковых технологий для обработки пищевых продуктов на момент написания данного обзора не установлено. Ученые сообщают о разработке нового оборудования, которое сочетает ультразвуковую и микроволновую обработку для размораживания, сушки, жарки, экстракции и обработки жидкостей. Некоторые разработанные устройства представляли собой обычную комбинацию двух отдельных единиц оборудования. Сочетание нескольких физических полей требует более высоких технологий и затрат, а срок службы интегрированного оборудования

пока не может быть гарантирован. Необходимы дальнейшие исследования для того, чтобы понять синергетический эффект ультразвуковых и микроволновых методов и оптимизировать характеристики комбинированных ультразвуковых и микроволновых устройств с точки зрения объема, технологии, показателей безопасности и интеллектуального регулирования.

Как видно из результатов исследования, ультразвуковое-микроволновое оборудование позволяет одновременно регулировать микроволновые и ультразвуковые параметры с помощью системы управления, а также контролировать процесс обработки в режиме реального времени с помощью машинного зрения или других технологий. Однако эффективность разработанного оборудования оценивалась только в лабораторных масштабах, что затрудняет его промышленное внедрение. Производство пищевых продуктов в промышленных масштабах требует обработки пищевых материалов при относительно высокой мощности и частоте микроволнового и ультразвукового излучения, что увеличивает сложность конструкции оборудования и материальные затраты. Хотя сочетание ультразвуковой и микроволновой обработки пищевых продуктов улучшило некоторые ключевые характеристики качества, существуют проблемы и ограничения по их широкому промышленному внедрению:

1. Несмотря на то что многие исследования подтверждают положительное влияние на качество продуктов в процессе ультразвукового и микроволнового размораживания, этот метод пока не нашел широкого промышленного использования из-за сложности процесса. Конструкция оборудования нуждается в дальнейшей оптимизации для обеспечения возможности управления в режиме реального времени параметрами ультразвуковой и микроволновой обработки во время процесса. Пищевые продукты помещаются в ванну с водой при комбинированном ультразвуково-микроволновом оттаивании. Эта вода поглощает ультразвуковую и микроволновую энергию, что снижает эффективность использования энергии;

2. Хотя предварительная обработка ультразвуком сокращает время сушки пищевых продуктов во время последующей сушки в микроволновой печи, общее время обработки и сушки имеет тенденцию к увеличению. Например, M. Li и др. заметили, что предварительная ультразвуковая обработка сокращает время сушки фасоли в микроволновой печи на 16,67–27,97 % по сравнению с материалами такой предварительной обработки. Однако общее время обработки увеличилось на 16,09–44,06 % [28]. В исследовании D. Su и др. сушка *Pleurotus eryngii*с с помощью комбинированной ультразвуковой-микроволновой сушки и микроволновой сушки горячим воздухом была завершена за 90 и 80 мин соответственно, хотя процесс микроволновой предварительной обработки с помощью ультразвуковой сушки потреблял меньше энергии [32];

3. Благодаря высокой эффективности сушки и равномерному высыханию пищевых материалов высушенные комбинированным методом ультразвуковой-микроволновой сушки пищевые продукты лучше сохраняют питательные вещества и цвет, чем продукты, высушенные с помощью микроволновой сушки и предварительной ультразвуковой сушки с помощью микроволновой сушки. Высокое энергопотребление комбинированного процесса ультразвуковой-микроволновой сушки является проблемой для широкого промышленного применения;

4. Комбинированная ультразвуковая-микроволновая экстракция – это перспективный метод экстракции с большим потенциалом применения в пищевой промышленности. Использование данного метода экстракции повышает выход экстракта и эффективность пищевых ингредиентов за счет комбинированного вибрационно-кавитационного и теплового воздействия ультразвуковой обработки и микроволнового излучения соответственно. Однако необходимы дальнейшие исследования для изучения влияния ультразвуковой и микроволновой энергии на структуру ткани материала и высвобождение целевого соединения во время процесса ультразвуковой-микроволновой экстракции. Как и методы комбинированной сушки и размораживания, исследования метода ультразвуковой-микроволновой экстракции проводилось в лабораторных масштабах. Для его промышленного применения необходимы дальнейшие пилотные или промышленные исследования.

Выводы

Комбинирование ультразвукового и микроволнового метода способно устранить проблемы и недостатки, которые возникают при использовании данных методов в отдельности. Недостатком ультразвука, применяемого для обработки пищевых продуктов, является низкий тепловой эффект, который приводит к длительному времени обработки. Когда микроволны применяются для обработки пищевых продуктов, то их объемный нагрев повышает эффективность обработки, но избирательный нагрев негативно влияет на качество обработанных пищевых продуктов. Комбинированное воздействие ультразвука и микроволн способно повысить эффективность процесса обработки пищевых продуктов, сохраняя их пищевую ценность. Эффективность процесса оттаивания и качество размороженных быстрозамороженных продуктов могут быть улучшены при комбинированном воздействии ультразвука и микроволн. Синергетический эффект ультразвука и микроволн вызывает изменение структуры тканей пищевых материалов, что способствует снижению сопротивления, возникающего в процессе сушки, и повышает эффективность процесса сушки. Применение комбинированного воздействия ультразвука и микроволн в процессе экстракции способствовало эффективному извлечению активных компонентов из пищевых материалов. Этот процесс также использовался для эффективной обработки жидких пищевых продуктов. Комбинированный метод ультразвуковой и микроволновой

экстракции может быть использован для увеличения выхода, повышения эффективности экстракции и улучшения физико-химических свойств активных соединений. Этот процесс эффективнее, чем традиционные методы термической экстракции или настаивания. Ультразвук играет важную роль в процессе микроволнового нагрева фруктовых и овощных соков. Он помогает в процессах гомогенизации и совместной стерилизации. Совместное использование микроволнового и ультразвукового оборудования для размораживания, сушки, экстракции и стерилизации пищевых продуктов стали чаще использовать в научных исследованиях.

Результаты обзора могут быть использованы при проведении дальнейших исследований по оптимизации процессов экстракции, сушки, размораживания и стерилизации, а также специалистами пищевой промышленности при выборе оптимальных способов обработки сырья и пищевых продуктов.

Критерии авторства

Л. Ч. Бурак – концептуализация, разработка методологии исследования, научное руководство исследованием, проведение исследования, анализ и интерпретация данных, написание и редактирование рукописи. А. П. Завалей – проведение исследования, валидация данных, подготовка и написание черновика рукописи, курирование данных, работа с программным обеспечением, редактирование рукописи

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов

Contribution

L.Ch. Burak – conceptualization, development of research methodology, scientific supervision of the study, conduct of the study, analysis and interpretation of data, writing and editing the manuscript. A.P. Zavaley – conducting the study, data validation, preparing and writing a draft manuscript, data curation, working with software, editing the manuscript

Conflict of interest

The authors declare no conflicts of interest.

References/Список литературы

1. Mao Y, Wang S. Recent developments in radio frequency drying for food and agricultural products using a multi-stage strategy: A review. Critical Reviews in Food Science and Nutrition. 2021;63(16):2654–2671. https://doi.org/10.1080/10408398.2021.1978925

2. Szadzinska J, Lechtanska J, Kowalski SJ, Stasiak M. The effect of high power airborne ultrasound and microwaves on convective drying effectiveness and quality of green pepper. Ultrasonics Sonochemistry. 2017;34:531–539. https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2016.06.030

3. Dave J, Kumar N, Upadhyay A, Purba DT, Kudre T, Nukthamna P, Sa-nguanpuag S, *et al.* Sustainable fish oil extraction from catfish visceral biomass: A comparative study between high-shear homogenization and highfrequency ultrasound on wet rendering process. Foods and Raw Materials. 2025;13(1):94–106. https://doi.org/10.21603/2308-4057-2025-1-627

4. Munoz-Almagro N, Morales-Soriano E, Villamiel M, Condezo-Hoyos L. Hybrid high-intensity ultrasound and microwave treatment: A review on its effect on quality and bioactivity of foods. Ultrasonics Sonochemistry. 2021;80:105835. https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2021.105835

5. Bhargava N, Mor RS, Kumar K, Sharanagat VS. Advances in application of ultrasound in food processing: A review. Ultrasonics Sonochemistry. 2021;70:105293 https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2020.105293

6. Kahraman O, Malvandi A, Vargas L, Feng H. Drying characteristics and quality attributes of apple slices dried by a non-thermal ultrasonic contact drying method. Ultrasonics Sonochemistry. 2021;73:105510. https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2021.105510

7. Li M, Zhou C, Wang B, Zeng S, Mu R, Li G, *et al.* Research progress and application of ultrasonic- and microwave-assisted food processing technology. Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety. 2023;22(5):3707–3731. https://doi.org/10.1111/1541-4337.13198

8. Guzik P, Kulawik P, Zając M, Migdał W. Microwave applications in the food industry: An overview of recent developments. Critical Reviews in Food Science and Nutrition. 2021;62(29):7989–8008. https://doi.org/10.1080/10408398.2021.1922871

9. Klinbun W, Rattanadecho P. Effects of power input and food aspect ratio on microwave thawing process of frozen food in commercial oven. Journal of Microwave Power and Electromagnetic Energy. 2019;53(4):225–242. https://doi.org/10.1080/08327823.2019.1677430

10. Kumar C, Kari MA. Microwave-convective drying of food materials: A critical review. Critical Reviews in Food Science and Nutrition. 2019;59(3):379–394. https://doi.org/10.1080/10408398.2017.1373269

11. Zielinska M, Ropelewska E, Xiao H-W, Mujumdar AS, Law CL. Review of recent applications and research progress in hybrid and combined microwave-assisted drying of food products: Quality properties. Critical Reviews in Food Science and Nutrition. 2020;60(13):2212–2264. https://doi.org/10.1080/10408398.2019.1632788

12. Valinger D, Kušen M, Benković M, Jurina T, Panić M, Radojčić Redovniković I, *et al.* Enhancement of the green extraction of bioactive molecules from *Olea europaea* leaves. Separations. 2022;9(2):33. https://doi.org/10.3390/separations9020033

13. Xu J, Wang D, Lei Y, Cheng L, Zhuang W, Tian Y. Effects of combined ultrasonic and microwave vacuum drying on drying characteristics and physicochemical properties of *Tremella fuciformis*. Ultrasonics Sonochemistry. 2022;84:105963. https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2022.105963

14. Lv W, Li D, Lv H, Jin X, Han Q, Su D, *et al.* Recent development of microwave fluidization technology for drying of fresh fruits and vegetables. Trends in Food Science and Technology. 2019;86:59–67. https://doi.org/10.1016/j.tifs.2019.02.047

15. Cai L, Zhang W, Cao A, Cao M. Effects of different thawing methods on the quality of largemouth bass (*Micropterus salmoides*). LWT. 2020;120:108908. https://doi.org/10.1016/j.lwt.2019.108908

16. Kernou ON, Belbahi A, Amir A, Bedjaoui K, Kerdouche K, Dairi S, *et al.* Effect of sonication on microwave inactivation of *Escherichia coli* in an orange juice beverage. Journal of Food Process Engineering. 2021;44(5):e13664. https://doi.org/10.1111/jfpe.13664

17. Qiu L, Zhang M, Chitrakar B, Bhandari B. Application of power ultrasound in freezing and thawing Processes: Effect on process efficiency and product quality. Ultrasonics Sonochemistry. 2020;68:105230. https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2020.105230

18. Zhu MM, Wang YQ, Liu XJ, Yao DH, Kang ZL, Zhao SM, *et al.* Effects of rapid and slow thawing methods on quality characteristics and protein denaturation of frozen pork. Science and Technology of Food Industry. 2018;39(23):23–30. https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2018.23.005

19. Icier F, Cokgezme OF, Sabanci S. Alternative thawing methods for the blanched/non-blanched potato cubes: Microwave, ohmic, and carbon fiber plate assisted cabin thawing. Journal of Food Process Engineering. 2017;40(2):e12403. https://doi.org/10.1111/jfpe.12403

20. Zhang R, Wang Y, Wang X, Luan D. Study of heating characteristics for a continuous 915 MHz pilot scale microwave thawing system. Food Control. 2019;104:105–114. https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2019.04.030

21. Sun Q, Kong B, Liu S, Zheng O, Zhang C. Ultrasound-assisted thawing accelerates the thawing of common carp (*Cyprinus carpio*) and improves its muscle quality. LWT. 2021;141:111080. https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.111080

22. Wang Y-Y, Yan J-K, Ding Y, Ma H. Effects of ultrasound on the thawing of quick-frozen small yellow croaker (*Larimichthys polyactis*) based on TMT-labeled quantitative proteomic. Food Chemistry. 2021;366:130600. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.130600

23. Li X, Ma Y, Sun P, Liu H, Cai L, Li J. Effect of ultrasonic thawing on protein properties and muscle quality of Bonito. Journal of Food Processing and Preservation. 2020;45(1):e14930. https://doi.org/10.1111/jfpp.14930

24. Cai L, Zhang W, Cao A, Cao M, Li J. Effects of ultrasonics combined with far infrared or microwave thawing on protein denaturation and moisture migration of *Sciaenops ocellatus* (red drum). Ultrasonics Sonochemistry. 2019;55:96–104. https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2019.03.017

25. Cai L, Wan J, Li X, Li J. Effects of different thawing methods on conformation and oxidation of myofibrillar protein from largemouth bass (*Micropterus salmoides*). Journal of Food Science. 2020;85(8):2470–2480. https://doi.org/10.1111/1750-3841.15336

26. Zhu M-M, Peng Z-Y, Lu S, He H-J, Kang Z-L, Ma H-J, *et al.* Physicochemical properties and protein denaturation of pork longissimus dorsi muscle subjected to six microwave-based thawing methods. Foods. 2019;9(1):26. https://doi.org/10.3390/foods9010026

27. Cao X, Zhang M, Mujumdar AS, Zhong Q. Evaluation of quality properties and water mobility in vacuum microwave-dried carrot slices using pulse-spouted bed with hot air. Drying Technology. 2018;37(9):1087–1096. https://doi.org/10.1080/07373937.2018.1484758

28. Li M, Wang B, Lv W, Zhao D. Effect of ultrasound pretreatment on the drying kinetics and characteristics of pregelatinized kidney beans based on microwave-assisted drying. Food Chemistry. 2022;397:133806. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2022.133806

29. Kipcak AS, Ismail O. Microwave drying of fish, chicken and beef samples. Journal of Food Science Technology. 2021;58(1):281–291. https://doi.org/10.1007/s13197-020-04540-0

30. Zhang J, Li M, Ding Z, Wang C, Cheng J. Evaluation of ultrasound-assisted microwave hot air convective drying Chinese hickory – Drying kinetics and product's quality properties. Journal of Food Process Engineering. 2021;44(11):e13842. https://doi.org/10.1111/jfpe.13842

31. Liu Y, Wang Y, Lv W, Li D, Wang L. Freeze-thaw and ultrasound pretreatment before microwave combined drying affects drying kinetics, cell structure and quality parameters of *Platycodon grandiflorum*. Industrial Crops and Products. 2021;164:113391. https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2021.113391

32. Su D, Sun W, Li B, Yang Y, Wang Y, Lv W, *et al.* Influence of ultrasonic pretreatments on microwave hot-air flow rolling drying mechanism, thermal characteristics and rehydration dynamics of *Pleurotus eryngii*. Journal of the Science of Food and Agriculture. 2022;102(5):2100–2109. https://doi.org/10.1002/jsfa.11551

33. Feng L, Xu Y, Xiao Y, Song J, Li D, Zhang Z, *et al.* Effects of pre-drying treatments combined with explosion puffing drying on the physicochemical properties, antioxidant activities and flavor characteristics of apples. Food Chemistry. 2021;338:128015. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.128015

34. Zhao Y, Zhu H, Xu J, Zhuang W, Zheng B, Lo YM, *et al.* Microwave vacuum drying of lotus (*Nelumbo nucifera* Gaertn.) seeds: Effects of ultrasonic pretreatment on color, antioxidant activity, and rehydration capacity. LWT. 2021;149:111603. https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.111603

35. Horuz E, Jaafar HJ, Maskan M. Ultrasonication as pretreatment for drying of tomato slices in a hot air-microwave hybrid oven. Drying Technology. 2016;35(7):849–859. https://doi.org/10.1080/07373937.2016.1222538

36. Zhang L, Liao L, Qiao Y, Wang C, Shi D, An K, *et al.* Effects of ultrahigh pressure and ultrasound pretreatments on properties of strawberry chips prepared by vacuum-freeze drying. Food Chemistry. 2020;303:125386. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.125386

37. Li L, Zhang M, Wang W. Ultrasound-assisted osmotic dehydration pretreatment before pulsed fluidized bed microwave freeze-drying (PFBMFD) of Chinese yam. Food Bioscience. 2020;35:100548. https://doi.org/10.1016/j.fbio.2020.100548

38. Zhao Y, Zheng Y, Li Z, Jiang Y, Zhuang W, Zheng B, *et al.* Effects of ultrasonic pretreatments on thermodynamic properties, water state, color kinetics, and free amino acid composition in microwave vacuum dried lotus seeds. Drying Technology. 2019;38(4):534–544. https://doi.org/10.1080/07373937.2019.1587618

39. Dehghannya J, Kadkhodaei S, Heshmati MK, Ghanbarzadeh B. Ultrasound-assisted intensification of a hybrid intermittent microwave – Hot air drying process of potato: Quality aspects and energy consumption. Ultrasonics. 2019;96:104–122. https://doi.org/10.1016/j.ultras.2019.02.005

40. Wiktor A, Witrowa-Rajchert D. Drying kinetics and quality of carrots subjected to microwave-assisted drying preceded by combined pulsed electric field and ultrasound treatment. Drying Technology. 2019;38(1–2):176–188. https://doi.org/10.1080/07373937.2019.1642347

41. Lagnika C, Huang J, Jiang N, Li D, Liu C, Song J, *et al.* Ultrasound-assisted osmotic process on quality of microwave vacuum drying sweet potato. Drying Technology. 2018;36(11):1367–1379. https://doi.org/10.1080/07373937.2017.1402786

42. Nowacka M, Wiktor A, Anuszewska A, Dadan M, Rybak K, Witrowa-Rajchert D. The application of unconventional technologies as pulsed electric field, ultrasound and microwave-vacuum drying in the production of dried cranberry snacks. Ultrasonics Sonochemistry. 2019;56:1–13. https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2019.03.023

43. Jiang J, Zhang M, Devahastin S, Yu D. Effect of ultrasound-assisted osmotic dehydration pretreatments on drying and quality characteristics of pulsed fluidized bed microwave freeze-dried strawberries. LWT. 2021;145:111300. https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.111300

44. Sledz M, Wiktor A, Rybak M, Nowacka M, Witrowa-Rajchert D. The impact of ultrasound and steam blanching pre-treatments on the drying kinetics, energy consumption and selected properties of parsley leaves. Applied Acoustics. 2016;103:148–156. https://doi.org/10.1016/j.apacoust.2015.05.006

45. Shamaei S, Emam-Djomeh Z, Moini S. Ultrasound-assisted osmotic dehydration of cranberries: Effect of finish drying methods and ultrasonic frequency on textural properties. Journal of Texture Studies. 2012;43(2):133–141. https://doi.org/10.1111/j.1745-4603.2011.00323.x

46. Aydar AY. Investigation of ultrasound pretreatment time and microwave power level on drying and rehydration kinetics of green olives. Food Science and Technology. 2021;41(1):238–244. https://doi.org/10.1590/fst.15720

47. Abbaspour-Gilandeh Y, Kaveh M, Fatemi H, Aziz M. Combined hot air, microwave, and infrared drying of hawthorn fruit: Effects of ultrasonic pretreatment on drying time, energy, qualitative, and bioactive compounds' properties. Foods. 2021;10(5):1006. https://doi.org/10.3390/foods10051006

48. Aydar AY, Aydin T, Yilmaz T, Kothakota A, Socol CT, Criste FC, *et al.* Investigation on the influence of ultrasonic pretreatment on color, quality and antioxidant attributes of microwave dried Inula *viscosa* (L.). Ultrasonics Sonochemistry. 2022;90:106184. https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2022.106184

49. Kaveh M, Taghinezhad E, Witrowa-Rajchert D, Imanian K, Khalife E, Nowacka M. Use of ultrasound pre-treatment before microwave drying of kiwifruits – An optimization approach with response surface methodology. Journal of Food Processing and Preservation. 2022;46(7):e16714. https://doi.org/10.1111/jfpp.16714

50. Lv W, Lv H, Jin X, Cui Z, Su D. Effects of ultrasound-assisted methods on the drying processes and quality of apple slices in microwave drying. Drying Technology. 2020;38(13):1806–1816. https://doi.org/10.1080/07373937.2019.1666274

51. Bhat ZF, Morton JD, Kumar S, Bhat HF, Aadil RM, Bekhit AE-DA. Ultrasonication as an emerging technology for processing of animal derived foods: A focus on *in vitro* protein digestibility. Trends in Food Science and Technology. 2022;124:309–322. https://doi.org/10.1016/j.tifs.2022.04.012

52. Şen S, Aydin F. Experimental investigation of drying kinetics of apple with hot air, microwave and ultrasonic power. Sādhanā. 2020;45:94. https://doi.org/10.1007/s12046-020-01326-0

53. Wang W, Lei Y, Lo YM, Han Y, Zheng B, Tian Y. Process effectiveness assessment by modeling the kinetics of lotus seed drying combining air-borne ultrasound and microwave vacuum. Journal of Food Process Engineering. 2021;44(9):e13795. https://doi.org/10.1111/jfpe.13795

54. Kowalski SJ, Pawłowski A, Szadzińska J, Łechtańska J, Stasiak M. High power airborne ultrasound assist in combined drying of raspberries. Innovative Food Science and Emerging Technologies. 2016;34:225–233. https://doi.org/10.1016/j.ifset.2016.02.006

55. Shahram H, Dinani ST. Optimization of ultrasonic-assisted enzymatic extraction of β-carotene from orange processing waste. Journal of Food Process Engineering. 2019;42(4):e13042. https://doi.org/10.1111/jfpe.13042

56. Bagade SB, Patil M. Recent advances in microwave assisted extraction of bioactive compounds from complex herbal samples: A review. Critical Reviews in Analytical Chemistry. 2021;51(2):138–149. https://doi.org/10.1080/10408347.2019.1686966

57. Vinatoru M, Mason TJ, Calinescu I. Ultrasonically assisted extraction (UAE) and microwave assisted extraction (MAE) of functional compounds from plant materials. TrAC Trends in Analytical Chemistry. 2017;97:159–178. https://doi.org/10.1016/j.trac.2017.09.002

58. Wang J, Zhang Y, Wang H, Huo S. Evaluation of extraction technologies and optimization of microwave and ultrasonic assisted consecutive extraction of phenolic antioxidants from winery byproducts. Journal of Food Process Engineering. 2019;42(4):e13064. https://doi.org/10.1111/jfpe.13064

59. Jiang Z, Shi R, Chen H, Wang Y. Ultrasonic microwave-assisted extraction coupled with macroporous resin chromatography for the purification of antioxidant phenolics from waste jackfruit (*Artocarpus heterophyllus* Lam.) peels. Journal of Food Science and Technology. 2019;56:3877–3886. https://doi.org/10.1007/s13197-019-03858-8

60. Lasunon P, Sengkhamparn N. Effect of ultrasound-assisted, microwave-assisted and ultrasound-microwave-assisted extraction on pectin extraction from industrial tomato waste. Molecules. 2022;27(4):1157. https://doi.org/10.3390/molecules27041157

61. Xu L, He W, Lu M, Yuan B, Zeng M, Tao G, *et al.* Enzyme-assisted ultrasonic-microwave synergistic extraction and UPLC-QTOF-MS analysis of flavonoids from Chinese water chestnut peels. Industrial Crops and Products. 2022;117:179–186. https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2018.03.012

62. Lianfu Z, Zelong L. Optimization and comparison of ultrasound/microwave assisted extraction (UMAE) and ultrasonic assisted extraction (UAE) of lycopene from tomatoes. Ultrasonics Sonochemistry. 2008;15(5):731–737. https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2007.12.001

63. Lin S, Meng X, Tan C, Tong Y, Wan M, Wang M, *et al.* Composition and antioxidant activity of anthocyanins from *Aronia melanocarpa* extracted using an ultrasonic-microwave-assisted natural deep eutectic solvent extraction method. Ultrasonics Sonochemistry. 2022;89:106102. https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2022.106102

64. Hu B, Li C, Qin W, Zhang Z, Liu Y, Zhang Q, *et al.* A method for extracting oil from tea (*Camellia sinensis*) seed by microwave in combination with ultrasonic and evaluation of its quality. Industrial Crops and Products. 2019;131:234–242. https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2019.01.068

65. Huang S, Ning Z. Extraction of polysaccharide from *Ganoderma lucidum* and its immune enhancement activity. International Journal of Biological Macromolecules. 2010;47(3):336–341. https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2010.03.019

66. Chen Y, Gu X, Huang S, Li J, Wang X, Tang J. Optimization of ultrasonic/microwave assisted extraction (UMAE) of polysaccharides from *Inonotus obliquus* and evaluation of its anti-tumor activities. International Journal Biological Macromolecules. 2010;46(4):429–435. https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2010.02.003

67. Sun H, Li C, Ni Y, Yao L, Jiang H, Ren X, *et al.* Ultrasonic/microwave-assisted extraction of polysaccharides from *Camptotheca acuminata* fruits and its antitumor activity. Carbohydrate Polymers. 2019;206:557–564. https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2018.11.010

68. Wang Y, Li R, Jiang Z-T, Tan J, Tang S-H, Li T-T, *et al.* Green and solvent-free simultaneous ultrasonic-microwave assisted extraction of essential oil from white and black peppers. Industrial Crops and Products. 2018;114:164–172. https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2018.02.002

69. Chen Q, Dong W, Wei C, Hu R, Long Y. Combining integrated ultrasonic-microwave technique with ethanol to maximise extraction of green coffee oil from Arabica coffee beans. Industrial Crops and Products. 2020;151:112405. https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2020.112405

70. Shen S, Zhou C, Zeng Y, Zhang H, Hossen MA, Dai J, *et al.* Structures, physicochemical and bioactive properties of polysaccharides extracted from *Panax notoginseng* using ultrasonic/microwave-assisted extraction. LWT. 2022;154:112446. https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.112446

71. Liu B, Jin F, Li Y, Wang H, Chi Y, Tian B, *et al.* Pasteurization of egg white by integrating ultrasound and microwave: Effect on structure and functional properties. Innovative Food Science and Emerging Technologies. 2022;79:103063. https://doi.org/10.1016/j.ifset.2022.103063

72. Liu C, Ni H-Y, Chang Y-H, Wang Z-L, Wan N, Cao L, *et al.* Effects of ultrasonic-microwave assisted extraction with green solvent on the chemical constituents, antioxidant, and hypolipidemic activities of Manchurian walnut oil. Journal of Food Processing and Preservation. 2022;46(7):e16603. https://doi.org/10.1111/jfpp.16603

73. Liu X, Xue Y, Xie H, Li J, Wang J, Ding T, *et al.* Effects of soaking temperature and ultrasonic power on the cooking time and physical properties of brown rice. Journal of Food Processing and Preservation. 2022;46(10):e16909. https://doi.org/10.1111/jfpp.16909

74. Mahdi AA, Rashed MMA, Al-Ansi W, Ahmed MI, Obadi M, Jiang Q, *et al.* Enhancing bio-recovery of bioactive compounds extracted from *Citrus medica* L. Var. *sarcodactylis*: Optimization performance of integrated of pulsed-ultrasonic/microwave technique. Journal of Food Measurement and Characterization. 2019;13:1661–1673. https://doi.org/10.1007/s11694-019-00083-x

75. Wang X, Reddy CK, Xu B. A systematic comparative study on morphological, crystallinity, pasting, thermal and functional characteristics of starches resources utilized in China. Food Chemistry. 2018;259:81–88. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.03.121

76. Cheng C, Jia M, Gui Y, Ma Y. Comparison of the effects of novel processing technologies and conventional thermal pasteurisation on the nutritional quality and aroma of Mandarin (*Citrus unshiu*) juice. Innovative Food Science and Emerging Technologies. 2020;64:102425. https://doi.org/10.1016/j.ifset.2020.102425

77. Samani BH, Khoshtaghaza MH, Minaei S, Zareifourosh H, Eshtiaghi MN, Rostami S. Design, development and evaluation of an automatic fruit-juice pasteurization system using microwave-ultrasonic waves. Journal of Food Science and Technology. 2016;53:88–103. https://doi.org/10.1007/s13197-015-2026-6

78. Das MJ, Das AJ, Chakraborty S, Baishya P, Ramteke A, Deka SC. Effects of microwave combined with ultrasound treatment on the pasteurization and nutritional properties of bottle gourd (*Lagenaria siceraria*) juice. Journal of Food Processing and Preservation. 2020;44(12):e14904. https://doi.org/10.1111/jfpp.14904

79. Pérez-Grijalva B, Herrera-Sotero M, Mora-Escobedo R, Zebadúa-García JC, Silva-Hernández E, Oliart-Ros R, *et al.* Effect of microwaves and ultrasound on bioactive compounds and microbiological quality of blackberry juice. LWT. 2018;87:47–53. https://doi.org/10.1016/j.lwt.2017.08.059

80. Shorstkii IA, Zherlicin AG, Li P. Impact of pulsed electric field and pulsed microwave treatment on morphological and structural characteristics of sunflower seed. OCL. 2019;26(7):47. https://doi.org/10.1051/ocl/2019048

81. Shorstkii I, Koshevoi E. Extraction kinetic of sunflower seeds assisted by pulsed electric fields. Iranian Journal of Science and Technology, Transactions A: Science. 2019;43:813–817. https://doi.org/10.1007/s40995-018-0591-z

82. Shorstkii I, Stuehmeier-Niehe C, Sosnin M, Ali Mounassar EH, Comiotto-Alles M, Siemer C, *et al.* Pulsed electric field treatment application to improve product yield and efficiency of bioactive compounds through extraction from peels in kiwifruit processing. Journal of Food Processing and Preservation. 2023;2023(1):8172255. https://doi.org/10.1155/2023/8172255

83. Lammerskitten A, Shorstkii I, Parniakov O, Mykhailyk V, Toepfl S, Rybak K, *et al.* The effect of different methods of mango drying assisted by a pulsed electric field on chemical and physical properties. Journal of Food Processing and Preservation. 2020;44(12):e14973. https://doi.org/10.1111/jfpp.14973

84. Shorstkii I, Sosnin M, Smetana S, Toepfl S, Parniakov O, Wiktor A. Correlation of the cell disintegration index with Luikov's heat and mass transfer parameters for drying of pulsed electric field (PEF) pretreated plant materials. Journal of Food Engineering. 2022;316:110822. https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2021.110822

85. Shorstkii I, Alles MC, Parniakov O, Smetana S, Aganovic K, Sosnin M, *et al.* Optimization of pulsed electric field assisted drying process of black soldier fly (*Hermetia illucens*) larvae. Drying Technology. 2020;40(3):595–603. https://doi.org/10.1080/07373937.2020.1819825

ISSN 2074-9414 (Print)
ISSN 2313-1748 (Online)

https://doi.org/10.21603/2074-9414-2024-2-2513
https://elibrary.ru/JDIICD

Оригинальная статья
https://fptt.ru

Действие органоминерального комплекса «Белый Жемчуг» на качество и выход товарных плодов яблони после длительного хранения

З. Е. Ожерельева*, А. Л. Никитин, П. С. Прудников, О. А. Ветрова

Всероссийский научно-исследовательский институт селекции плодовых культур, Жилина, Россия

Поступила в редакцию: 07.07.2023
Принята после рецензирования: 18.09.2023
Принята к публикации: 03.10.2023

**З. Е. Ожерельева: ozherelieva@orel.vniispk.ru, https://orcid.org/0000-0002-1730-4073*
А. Л. Никитин: https://orcid.org/0000-0003-4627-6451
П. С. Прудников: https://orcid.org/0000-0001-9097-8042
О. А. Ветрова: https://orcid.org/0000-0003-2868-323X

© З. Е. Ожерельева, А. Л. Никитин, П. С. Прудников, О. А. Ветрова, 2024

Аннотация.
При выращивании яблони одним из наиболее перспективных способов повышения качества плодовой продукции является использование биопрепаратов. В связи с этим изучение влияния новых органоминеральных смесей на товарно-потребительские качества плодов яблони является актуальным. Цель исследования – изучить влияние некорневой обработки органоминеральной смесью на химический состав и физиологические расстройства (загар и горькая ямчатость) яблок и повышение выхода товарных плодов после длительного хранения.
Объектом исследования являлись биопрепараты, представляющие собой природный растительный комплекс «Белый Жемчуг». Варианты опыта: № 1 – контроль (без обработки) и № 2 – некорневая обработка (1 % раствор «Белый Жемчуг Универсальный Антифриз» + 1 % раствор «Белый Жемчуг Дрип Са + Mg»). Изучили действие испытуемых препаратов на химический состав и товарно-потребительские качества плодов сорта яблони Синап Орловский после длительного хранения. Хранили плоды в холодильном шкафу ШХ CV114-S при температурном режиме +2 °С и относительной влажности воздуха 85–90 %.
Некорневые обработки органоминеральной смесью природного растительного комплекса «Белый Жемчуг» существенно не повлияли на содержание растворимых сухих веществ, суммы сахаров, титруемых кислот и аскорбиновой кислоты в плодах сорта яблони Синап Орловский в съемной зрелости. Выявили влияние на химический состав плодов яблони метеоусловий за месяц до съема урожая. Некорневые обработки увеличили в 1,62 раз выход товарных плодов опытного сорта Синап Орловский после продолжительного хранения, а также в 1,9 раз снизили поражение загаром, в 2,6 раз горькой ямчатостью и в 1,9 раз монилиозом плодов.
Проведенные испытания новых органоминеральных удобрений линии природного растительного комплекса «Белый Жемчуг» показывают высокую эффективность их использования в качестве дополнительных приемов в традиционных технологиях возделывания яблони и рекомендуются для повышения качества и выхода товарных плодов после длительного хранения.

Ключевые слова. Садоводство, яблоня, химический состав, хранение, физиологические расстройства, загар, горькая ямчатость

Финансирование. Работа выполнена в рамках государственного задания Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (Минобрнауки России) и тематического плана Всероссийского научно-исследовательского института селекции плодовых культур (ВНИИСПК) «Создание новых конкурентоспособных, адаптивных сортов семечковых культур с использованием инновационных методов селекции и разработка экологически безопасных элементов технологии выращивания и переработки» (FGZS-2022-0008).

Для цитирования: Действие органоминерального комплекса «Белый Жемчуг» на качество и выход товарных плодов яблони после длительного хранения / З. Е. Ожерельева [и др.] // Техника и технология пищевых производств. 2024. Т. 54. № 2. С. 358–368. https://doi.org/10.21603/2074-9414-2024-2-2513

https://doi.org/10.21603/2074-9414-2024-2-2513
https://elibrary.ru/JDIICD

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

Beliy Zhemchug Activated Complex: Effect on Quality and Yield of Commercial Apples after Long-Term Storage

Zoya E. Ozherelieva*, Andrej L. Nikitin, Pavel S. Prudnikov, Oksana A. Vetrova

Russian Research Institute for Fruit Crop Breeding, Zhilina, Russia

Received: 07.07.2023
Revised: 18.09.2023
Accepted: 03.10.2023

**Zoya E. Ozherelieva: ozherelieva@orel.vniispk.ru, https://orcid.org/0000-0002-1730-4073*
Andrej L. Nikitin: https://orcid.org/0000-0003-4627-6451
Pavel S. Prudnikov: https://orcid.org/0000-0001-9097-8042
Oksana A. Vetrova: https://orcid.org/0000-0003-2868-323X

© Z.E. Ozherelieva, A.L. Nikitin, P.S. Prudnikov, O.A. Vetrova, 2024

Abstract.
Biological fertilizers improve fruit quality; for instance, organomineral, or activated mixes are known to increase consumer qualities of apples. This article describes the effect of a new activated complex (non-root treatment) on the yield, chemical composition, and physiological disorders, e.g., scald and brown spot, of commercial apples after long-term storage.
The research featured the natural activated complex of the Beliy Zhemchug (White Pearl) brand. The apple trees were divided into two groups: 1 – untreated control trees; 2 – trees that underwent a non-root treatment with the activated complex (1% solution of its Antifreeze variant + 1% solution of the Drip Ca + Mg variant). The trees belonged to the Sinap Orlovskiy cultivar, which is highly susceptible to brown spot and scald, both in the orchard and during long-term storage. The apples were studied for chemical composition and consumer qualities after long-term storage in a CV114-S refrigerator at +2°C and a relative humidity of 85–90%.
The non-root treatment of apple trees with the Beliy Zhemchug activated complex had no significant effect on the content of soluble solids, total sugars, titrated acids, and ascorbic acid in ripe apples. Weather conditions affected the chemical composition 30 days before harvesting. The non-root treatment increased the yield of commercial apples by 1.62 times after long-time storage. The scald, brown spot, and moniliosis damage decreased by 1.9, 2.6, and 1.9 times, respectively.
The activated fertilizers of the Beliy Zhemchug brand proved highly efficient as additional techniques in common apple cultivation and could be recommended to improve the quality and yield of commercial fruits after long-term storage.

Keywords. Horticulture, apple trees, chemical composition, storage, physiological disorders, scald, bitter pitting

Finding. The research was part of state assignment from the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation (Minobrnauki) to the Russian Research Institute for Fruit Crop Breeding (VNIISPK), research topic: New competitive and adaptive varieties of pome fruits obtained by innovative and environmentally friendly breeding, cultivation, and processing (FGZS-2022-0008).

For citation: Ozherelieva ZE, Nikitin AL, Prudnikov PS, Vetrova OA. Beliy Zhemchug Activated Complex: Effect on Quality and Yield of Commercial Apples after Long-Term Storage. Food Processing: Techniques and Technology. 2024;54(2):358–368. (In Russ.). https://doi.org/10.21603/2074-9414-2024-2-2513

Введение

Фрукты, в частности яблоки, занимают важное место в рационе человека, являясь источником диетического питания, которое обладает лечебно-профилактическим действием. Яблоки содержат в своем составе большое количество воды (70–85 %), относительно высокое содержание углеводов, низкое – белков и жиров. В яблоках обнаружено свыше десяти витаминов, необходимых человеку, имеются минералы и антиоксиданты [1].

Ежегодно во всем мире потребляется около 64,6 млн т яблок, что делает яблоки наиболее часто употребляемым фруктом [2, 3]. По данным Росстата, сегодня объем производства яблок в России составляет более 1 млн т в год. Выход товарной продукции составляет порядка 50 % в общем производстве яблок. Поэтому важно получать не только высокий урожай, но и производить высококачественные плоды яблони длительного хранения.

Решить проблему круглогодичного обеспечения населения свежими и качественными плодами яблони возможно при условии организации их длительного хранения во фруктохранилищах. В условиях низкой положительной температуры метаболизм плодов яблони

замедляется, а сроки хранения увеличиваются (до 2–4 месяцев), но может усиливаться развитие физиологических расстройств, таких как поверхностный загар, горькая ямчатость, внутреннее побурение и др. [4]. Экономический ущерб производителям продукции яблони наносят загар и горькая ямчатость. У плодов яблони, пораженных загаром, кожица буреет, мякоть не повреждается. Ткань плодов, зараженная горькой ямчатостью, отмирает, коричневеет и приобретает структуру губки, становясь горькой на вкус. Также плоды яблони инфицируются микробиологическими заболеваниями. Наиболее активно на плодах яблони проявляется плодовая гниль (монилиоз), которой они заражаются еще в саду, а порча происходит уже при хранении.

Одним из наиболее перспективных методов повышения качества и снижения физиологических расстройств плодовой продукции является использование при возделывании яблони экологически чистых соединений, таких как природные биостимуляторы [5–7]. Данные биостимуляторы в малых дозах стимулируют в растениях физиолого-биохимические процессы, что приводит к улучшению качества плодов и повышению продуктивности [8–11]. В связи с этим разработаны элементы технологии на основе применения растительных биостимуляторов, которые обеспечивают высокую продуктивность и качество плодов [12, 13]. Трехкратная некорневая подкормка органоминеральным удобрением «ЭврикорФорте+7» (расход 1,5 л/га) способствовала повышению аскорбиновой кислоты в ягодах земляники сортов Анастасия – 61,8 мг/100 г (увеличение на 3,5 % по сравнению с контролем) и Орлец – 60,2 мг/100 г (увеличение на 6,1 %) [14]. В состав данного препарата, кроме гуминовых кислот, входят N – 8,4 %, P – 3,6 %, K – 10,4 %, B – 0,7 %, S – 0,04 %, Fe – 0,06 %, Cu – 0,01 %, Zn – 0,01 %, Mg – 0,01 %, Co – 0,0005 % и Mo – 0,0012 %; Mn, Zn, Li, Cr и Ni – в хелатной форме. Комплексное органоминеральное удобрение «Налив» на основе биогумата из конского навоза и растительного сырья (гуминовые и фульвокислоты, аминокислоты, в том числе пролин) увеличивает содержание моносахаридов в созревающих плодах яблони в 1,8 раза, сахарозы на 10 % [15]. В проводимых нами ранее опытах по некорневым обработкам яблони органоминеральной смесью природного растительного комплекса «Белый Жемчуг» показано повышение урожая плодов (в 1,8 раз) и их качества на фоне регуляции белково-углеводного обмена, водного режима и донорно-акцепторных отношений лист – плод [16]. Анализ литературных данных по применению биопрепаратов в садоводстве подтверждает их эффективность: они ускоряют рост и созревание плодов, улучшают их качество, что приводит к повышению урожайности садовых культур [17–19]. В связи с этим исследования, направленные на выделение новых биопрепаратов, которые положительно влияют на качество продукции садовых культур, являются актуальными. Возникает вопрос о детальном изучении влияния биологически активных веществ на сорта плодовых культур в саду.

Целью работы являлось изучение влияния некорневой обработки органоминеральной смесью на химический состав и физиологические расстройства (загар и горькая ямчатость) плодов яблони и повышение выхода товарных плодов после длительного хранения.

Объекты и методы исследования

На производственном участке (21 квартал) и на базе лаборатории физиологии устойчивости плодовых растений ФГБНУ ВНИИСПК в 2021–2023 гг. провели испытания новых органоминеральных удобрений.

Объектом исследования являлись препараты, представляющие собой природный растительный комплекс (ПРК) «Белый Жемчуг», которые рекомендуются производителем для повышения качества плодовой продукции на основе оптимизации органоминерального питания растений. Препараты не имеют класса опасности.

Фитомодулятор ПРК «Белый Жемчуг Универсальный (БЖУ) Антифриз» представляет собой суспензию группы минералов природного происхождения с содержанием концентрата экстрактов хвои ели, сосны и сибирской пихты. В состав входят минеральные элементы SiO_2 – 5,6 %, N (общий) – 2–6 %, CaO – 5000 ppm, MgO – 7000 ppm, K_2O – 0,2 %; биоэлементы B – 130 ppm, Zn – 150 ppm, Mo – 200 ppm, Al_2O_3 – 1600 ppm и другие микроэлементы; витамины A (каротин, лютеин), D (фитостерины), E, K, B_1, B_2, B_6, PP и H; эфирные масла, хлорофилл, флавоноиды, сахара, белки и аминокислоты.

Фитокорректор ПРК «Белый Жемчуг (БЖ) Дрип Ca + Mg» представляет собой экстракт вегетативной массы океанической биофлоры на органоминеральной основе. В состав входят биоэлементы Ca – 3490,0 ppm, Mg – 2829,0 ppm, P – 42,9 ppm, K – 38,8 ppm, S – 0,3 ppm, Fe – 68,7 ppm, Mn – 3,65 ppm, B – 3,37 ppm, Cu – 0,85 ppm, Zn – 0,05 ppm, Si – 0,1 ppm, Se – 0,003 ppm, J – 2,1 ppm, Mo – 0,01 ppm; минеральные элементы SiO_2 – 5,6 %, CaO – 0,4 %, MgO – 0,4 %, K_2O – 0,2 %, Fe_2O_3 – 0,4 %, Al_2O_3 – 0,16 %; витамины A (каротин, лютеин), D (фитостерины), E, K, B_1, B_2, B_6, PP и H; хлорофилл, сульфокислоты, гуминовые кислоты, сахара, белки и аминокислоты.

Органоминеральные смеси ПРК «Белый Жемчуг» испытывали на сорте яблони Синап Орловский. Данный сорт характеризуется высокой восприимчивостью к горькой ямчатости как в саду, так и в период длительного хранения, а также к загару [4, 20]. Синап Орловский – триплоидный сорт позднезимнего созревания, получен от скрещивания сортов Северный синап и Память Мичурина; районирован в Центральном и Центрально-Черноземном регионах.

Опыт заложен в двух вариантах: № 1 – контроль (без обработки) и № 2 – некорневая обработка органоминеральной смесью ПРК 1,0 % «БЖУ Антифриз» + 1,0 % «БЖ Дрип Ca + Mg». Опытный сорт яблони привит на среднерослом подвое 54–118 на участке с агросерыми лесными почвами с содержанием гумуса 3–4 % и мощностью гумусового горизонта 30–35 см. Год посадки – 2013 г. Схема размещения деревьев в саду

6×3 м. В междурядьях используется естественное залужение, в приствольных полосах – гербициды. Использовали общепринятую для культуры агротехнику. В каждом опыте 3 повторности, в каждой повторности 5 учетных деревьев.

Регламент применения препаратов на опытном участке выполняли согласно рекомендациям производителя. В летний период провели четырехкратную некорневую обработку растений сорта яблони Синап Орловский препаратами ПРК 1,0 % раствор «БЖУ Антифриз» + 1,0 % «БЖ Дрип Са + Mg» для сохранения плодов от осыпания и повышения их качества: через 14 дней после цветения; в фенофазе «плод – лещина»; в фенофазе «плод – грецкий орех»; за 25 дней до уборки урожая. Объем расхода каждого препарата – 7 мл на одно дерево. Для приготовления 1,0 % раствора брали 100 мл каждого препарата на 10 л воды.

Химический состав в съемной и потребительской стадиях зрелости, а также лежкость плодов яблони изучали в соответствии с [21, 22]. Содержание растворимых сухих веществ выявили с помощью портативного рефрактометра PAL-3 (Atago, Япония) по ГОСТ ISO 2173-2013. Определение содержания суммы сахаров (глюкоза, фруктоза и сахароза) выполнили методом Бертрана по ГОСТ 8756-13.87. Определение общей кислотности (титруемой кислотности) провели титрованием децинормальным раствором NaOH по ГОСТ ISO 750-2013. Содержание аскорбиновой кислоты (витамин С) установили ускоренным методом по Ермакову и др. титрованием щавелевокислых вытяжек краской Тильманса (2,6-дихлорфенолиндофенолом) по ГОСТ 24556-89 и йодометрическим методом.

На опытное хранение плоды яблони закладывали в день съема. Хранили плоды традиционным способом (обычная атмосфера) в холодильном шкафу ШХ CV114-S (POLAIR, Россия) при температурном режиме +2 °С и относительной влажности воздуха 85–90 %. Для хранения плодов яблони использовали ящики полимерные многооборотные типа I (ГОСТ Р 51289-99). По каждому варианту заложили на длительное хранение 3 стандартных ящика. Один ящик – повторность, в каждой повторности 40 плодов опытного сорта. Температуру в холодильной камере измеряли минимальным и метеорологическим термометрами (ТМ-2 и ТМ-4, Россия) и термографом (М-16, Россия); относительную влажность воздуха – психрометром Ассмана (МВ-4-2М, Россия) и волосяным гигрографом (М-19, Россия).

Физиологические расстройства и микробиологические заболевания плодов в конце хранения устанавливали методом визуального наблюдения по определителям болезней растений и альбому «Болезни плодов, овощей и картофеля при хранении» [23]. Учеты дефектных плодов проводили по количеству с пересчетом на проценты. В случае поражения одного плода несколькими расстройствами или заболеваниями учет вели по преобладающему.

Для оценки увлажнения рассчитали ГТК – показатель территориальной засухи, предложенный климатологом Г. Т. Селяниновым. ГТК вычисляется как отношение суммы осадков к сумме среднесуточных температур 10 °С и выше с коэффициентом 0,1. Величина ГТК в пределах 1,0–1,4 обуславливает оптимальное увлажнение, более 1,4 – избыточное, менее 1,0 – засуху.

Полученные результаты оценивали методом дисперсионного анализа (ANOVA) в программе MS Excel 2003 с привлечением критерия Фишера (F).

Результаты и их обсуждение

Формирование качественных показателей плодов яблони зависит от абиотических и биотических факторов в период выращивания. Погодные условия влияют на качественные характеристики плодов, формирующихся в вегетационный период, сказываясь на их размерах, массе, химическом составе и перспективной лежкости. Стрессовые погодные условия (длительное или краткосрочное воздействие повышенных либо пониженных температур, недостаточность или избыток осадков) влияют на степень зрелости плодов и их поражение функциональными расстройствами в процессе длительного хранения. В последнее время основные потери при хранении яблок обусловлены физиологическими заболеваниями в виде загара и горькой ямчатости, в меньшей степени – в виде микробиологических гнилей [4]. Развитию загара при хранении способствуют стрессовые погодные условия периода вегетации (сухая, жаркая погода) и съем плодов в недозрелом состоянии, что связано с качественными показателями плодов, закладываемых на хранение [24]. Горькая ямчатость может появляться в саду, но развивается при хранении; она обусловлена несбалансированным минеральным составом, в большей степени – недостаточным содержанием кальция в плодах.

Погодные условия за месяц до уборки влияют на развитие физиологических заболеваний яблок при длительном хранение. Если в этот период будет высокая температура воздуха, то плоды яблони будут сильнее подвержены загару. Также на поражение яблок при длительном хранение побурением мякоти влияет выпадение осадков за месяц до съема.

Анализ метеоусловий исследуемого периода показал, что сумма среднесуточных температур 10 °С и выше за 30 дней до съема плодов яблони была на 14,6 °С выше в 2022 г., чем в 2021 г. В 2022 г. наблюдали низкие условия увлажнения растений: за 30 дней выпало на 14,4 мм меньше осадков, и ГТК был ниже (в 1,8 раз). Таким образом, за исследуемый период распределение температуры и осадков было неравномерное. В 2022 г. за 30 дней до съема плодов сорта Синап Орловский наблюдали более сухую и жаркую погоду по сравнению с 2021 г. Однако сложившиеся погодные условия значительно не повлияли на срок съема плодов сорта яблони Синап Орловский, т. к. съемная зрелость плодов наступила практически в одни и те же сроки (табл. 1).

В 2021 г. съем плодов сорта Синап Орловский провели 13 сентября, а в 2022 г. 8 сентября.

Плоды яблони имеют различные параметрические значения биохимических компонентов в зависимости от сорта и года сбора урожая [24].

Изучили содержание основных и наиболее значимых компонентов химического состава плодов яблони, которые характеризуют их пищевую ценность в съемной и потребительской стадиях зрелости в процессе хранения. По данным биохимического анализа, проведенного до закладки яблок на длительное хранение, выявили влияние метеоусловий на содержание растворимых сухих веществ в плодах сорта Синап Орловский. В 2021 г. в плодах сорта яблони Синап Орловский количество растворимых сухих веществ накопилось больше на 6,2 %, чем в более сухой и жаркий 2022 г. (табл. 1). По вариантам опыта содержание растворимых сухих веществ в плодах в процессе хранения повышалось. В 2022 г. выявили различия по содержанию растворимых сухих веществ в плодах после хранения по сравнению с плодами до закладки на длительное хранение в обоих вариантах опыта. Большую часть сухих веществ в плодах растений составляют углеводы, главным образом сахара. В связи с этим причиной увеличения концентрации растворимых сухих веществ в созревающих плодах яблони к концу хранения является повышение в них содержания сахаров. Некорневые обработки органоминеральной смесью ПРК «Белый Жемчуг» существенно не повлияли на содержание растворимых сухих веществ в плодах опытного сорта яблони (табл. 2). Плоды в каждом варианте опыта на конец хранения имели средний уровень содержания растворимых сухих веществ. Следует отметить высокое содержание растворимых сухих веществ на конец хранения в яблоках после некорневых обработок в 2021 г. Для плодов сортов яблони, выращенных в условиях средней полосы России, высоким уровнем растворимых сухих веществ считается более 13 % [25]. S. Soppelsa с соавторами не выявили положительного действия экстракта макроводорослей, витаминов группы В и гидролизата белка на содержание растворимых сухих веществ в плодах яблони [26].

Сахара (фруктоза, глюкоза и сахароза), содержащиеся в плодах яблони, обладают способностью легко усваиваться организмом человека, чем обуславливается их ценность.

В 2021 г. плоды имели средний (менее 12 %) – 9,5 % в контроле и 10,6 % в варианте с обработкой органоминеральной смесью – уровень содержания суммы сахаров (сахароза + моносахара) до закладки на длительное хранение [25]. В 2022 г. содержание суммы сахаров в плодах также было на среднем уровне в обоих вариантах опыта. В плодах сорта Синап Орловский отметили повышение содержания суммы сахаров на конец хранения в каждом варианте опыта. В 2021 г. в плодах контроля сахара повысились на 24,5 %, в варианте с обработкой на 14,3 %. В 2022 г. повышение в плодах содержания суммы сахаров на 21,6 % выявили во втором варианте, на 14,5 %

Таблица 1. Метеорологические данные за месяц до съема плодов сорта яблони Синап Орловский (данные метеопоста ВНИИСПК за 2021–2022 гг.)

Table 1. Meteorological data for 30 days before harvesting Sinap Orlovskiy apples, 2021–2022

Дата съема плодов в саду	Сумма среднесуточных температур ≥ 10 °С	Сумма осадков, мм	Гидротермический коэффициент увлажнения (ГТК)
	за 30 дней до съема		
13.09.2021 г.	458,5	33,7	0,74
08.09.2022 г.	473,1	19,3	0,41

Таблица 2. Содержание растворимых сухих веществ в плодах сорта яблони Синап орловский, %

Table 2. Soluble solids in Sinap Orlovskiy apples, %

Год (А)	Вариант опыта (В)	Период химического анализа (С)		Среднее	
		до хранения	после хранения	А	АВ
2021	Контроль (без обработки)	12,0	12,9	–	12,4
	Некорневая обработка ПРК 1,0 % «БЖУ Антифриз» + 1,0 % «БЖ Дрип Са + Mg»	11,8	13,4	–	12,6
	Среднее АС	11,9	13,2	12,5	–
2022	Контроль (без обработки)	11,0	12,3	–	11,7
	Некорневая обработка ПРК 1,0 % «БЖУ Антифриз» + 1,0 % «БЖ Дрип Са + Mg»	11,2	12,4	–	11,8
	Среднее АС	11,1	12,4	11,7	–
	НСР A_{05} = 0,7	НСР C_{05} = 0,7	АВ $F_ф < F_т$	АС $F_ф < F_т$	АВС $F_ф < F_т$

в контроле. Установили влияние метеоусловий на накопление сахаров в плодах. В опыте выявили различия по сумме сахаров в плодах сорта яблони Синап Орловский до и после хранения на уровне значимости 0,95 % (табл. 3). По некоторым данным уровень сахаров в процессе хранения плодов яблони может быть стабильным, а может повышаться или понижаться. Это зависит скорей от сортовых особенностей, чем от условий хранения [24]. В нашем эксперименте в плодах яблони содержание суммы сахаров увеличивается к концу хранения по мере их созревания. В этот период изменяется их химический состав и свойства. В созревающих плодах происходит повышение суммы сахаров за счет биосинтеза крахмала. Некоторое увеличение концентрации сахаров может происходить в результате испарения плодами влаги, которое в этот период бывает более интенсивным, чем расход моносахаридов, кислот и других веществ на дыхание.

Органические кислоты влияют на качественные характеристики плодов и их лежкость. Содержание органических кислот в плодах обуславливается как сортовыми особенностями, так и метеорологическими условиями вегетационного периода. Органические кислоты, как и сахара, определяют не только вкус, но и технологические качества плодов яблони, а также являются возбудителем секреции поджелудочной железы и способствуют нормализации пищеварения у человека.

До закладки на длительное хранение показатель титруемой кислотности в плодах в каждом варианте опыта находился на высоком уровне (средний уровень кислотности для сортов селекции ВНИИСПК считается от 0,61 до 0,85 %, высокий уровень кислотности > 0,86 %) [25]. В плодах сорта яблони Синап Орловский отметили снижение содержания органических (титруемых) кислот на конец хранения, что положительно влияет на показатели сахарокислотного индекса. Наибольшее снижение титруемых кислот в процессе хранения в 2,7 раз в плодах контрольного варианта и в 2,4 раз в варианте с некорневой обработкой от исходного уровня отметили в 2021 г. В 2022 г. уровень кислотности в плодах контроля снизился в 1,7 раз, а в опыте с обработкой в 1,9 раз. Содержание органических кислот было меньше (на 25 %) в плодах опытного сорта на момент их съема в сухой и более жаркий 2022 г. (табл. 1). Однако значительного влияния некорневых обработок органоминеральной смесью ПРК «Белый Жемчуг» на количество органических кислот в плодах опытного сорта яблони не выявили (табл. 4). Показатель титруемой кислотности в плодах находился на низком уровне (менее < 0,61 %) в обоих вариантах опыта после длительного хранения. На содержание орга-

Таблица 3. Содержание суммы сахаров в плодах сорта яблони Синап Орловский, %

Table 3. Total sugars in Sinap Orlovskiy apples, %

Год (А)	Вариант опыта (В)	Период химического анализа (С)		Среднее	
		до хранения	после хранения	А	АВ
2021	Контроль (без обработки)	9,5	12,6	–	11,08
	Некорневая обработка ПРК 1,0 % «БЖУ Антифриз» + 1,0 % «БЖ Дрип Са + Mg»	10,6	12,3	–	11,5
	Среднее АС	10,1	12,5	11,3	–
2022	Контроль (без обработки)	8,9	10,5	–	9,7
	Некорневая обработка ПРК 1,0 % «БЖУ Антифриз» + 1,0 % «БЖ Дрип Са + Mg»	8,7	11,2	–	10,0
	Среднее АС	8,8	10,8	9,8	–
	НСР A_{05} = 0,7 НСР C_{05} = 0,7 АВ $F_ф < F_т$ АС $F_ф < F_т$ АВС $F_ф < F_т$				

Таблица 4. Содержание титруемых кислот в плодах сорта яблони Синап Орловский, %

Table 4. Titratable acids in Sinap Orlovskiy apples, %

Год (А)	Вариант опыта (В)	Период химического анализа, С		Среднее	
		до хранения	после хранения	А	АВ
2021	Контроль (без обработки)	1,0	0,4	–	0,7
	Некорневая обработка ПРК 1,0 % «БЖУ Антифриз» + 1,0 % «БЖ Дрип Са + Mg»	1,0	0,4	–	0,7
	Среднее АС	1,0	0,4	0,7	–
2022	Контроль (без обработки)	0,7	0,4	–	0,6
	Некорневая обработка ПРК 1,0 % «БЖУ Антифриз» + 1,0 % «БЖ Дрип Са + Mg»	0,7	0,4	–	0,6
	Среднее АС	0,7	0,4	0,6	–
	НСР A_{05} = 0,1 НСР C_{05} = 0,1 АВ $F_ф < F_т$ НСР АС = 0,1 АВС $F_ф < F_т$				

нических кислот в плодах яблони некорневые обработки комплексным биостимулятором, который содержит экстракт макроводорослей, витамины группы В и гидролизат белка, не оказывали положительного действия [27].

На стадии потребительской зрелости (после длительного хранения) изучаемые плоды по всем вариантам сформировали хороший кисло-сладкий вкус, о чем свидетельствует значение сахарокислотного индекса – это отношение содержания суммы сахаров к содержанию титруемых кислот. Оптимальным значением сахарокислотного индекса, при помощи которого определяют гармоничный (кисло-сладкий) вкус плодов, является показатель 15–20. В нашем опыте после съема в плодах сахарокислотный индекс варьировался от 10,1 до 12,4 (контроль) и от 11,3 до 12,3 (некорневые обработки), после длительного хранения – от 29,4 до 32,7 (некорневые обработки) и от 24,5 до 36,2 (контроль). Из-за снижения содержания титруемых кислот и повышения суммы сахаров значение сахарокислотного индекса увеличилось, что положительно отразилось на вкусе плодов. Дегустационная оценка была выше у плодов варианта опыта с некорневыми обработками – 4,7 баллов (внешний вид) и 4,9 баллов (вкус), в то время как контрольные плоды имели оценку 4,5 и 4,6 баллов соответственно (табл. 5).

В плодах яблони в достаточном количестве содержится наиболее ценный витамин С (аскорбиновая кислота). При употреблении плодов яблони в пищу действие витамина С усиливается, т. е. он является синергистом с другими биологически активными веществами. Основное физиологическое значение аскорбиновой кислоты для организма человека заключается в ее участии в окислительно-восстановительных процессах. Она принимает активное участие в биохимических процессах как в составе ферментных систем, так и виде свободной аскорбиновой кислоты. Аскорбиновая кислота является поставщиком водорода для важного биохимического процесса – образования ядра ДНК, содержащейся в протоплазме. При недостатке витамина С в организме нарушаются процессы азотистого обмена и понижается степень использования белка.

Сложившиеся метеоусловия в годы исследования влияли на накопление аскорбиновой кислоты в плодах яблони. В 2021 г. в плодах сорта Синап Орловский содержание аскорбиновой кислоты было больше на 15,9 мг/100 г, чем в 2022 г. В опытных плодах, которые были обработаны органоминеральной смесью, аскорбиновой кислоты накопилась больше на 4,4 (2021 г.) и 3,7 мг/100 г (2022 г.), чем в плодах контрольного варианта. Показатель содержания аскорбиновой

Таблица 5. Отношение сахар/кислота в плодах сорта яблони Синап Орловский

Table 5. Sugar vs. acid ratio in Sinap Orlovskiy apples

Год (А)	Вариант опыта (В)	Период химического анализа (С)		Среднее	
		до хранения	после хранения	А	АВ
2021	Контроль (без обработки)	10,1	36,2	–	23,1
	Некорневая обработка ПРК 1,0 % «БЖУ Антифриз» + 1,0 % «БЖ Дрип Са + Mg»	11,3	32,7	–	22,0
	Среднее АС	10,7	34,5	22,6	–
2022	Контроль (без обработки)	12,4	24,5	–	18,5
	Некорневая обработка ПРК 1,0 % «БЖУ Антифриз» + 1,0 % «БЖ Дрип Са + Mg»	12,3	29,4	–	20,9
	Среднее АС	12,4	27,0	19,7	–
	$A\ F_ф < F_т$ $НСР\ C_{05} = 3,7$	$АВ\ F_ф < F_т$	$НСР\ AC_{05} = 4,9$	$АВС\ F_ф < F_т$	

Таблица 6. Содержание аскорбиновой кислоты в плодах сорта яблони Синап Орловский, мг/100 г

Table 6. Ascorbic acid in Sinap Orlovskiy apples, mg/100 g

Год (А)	Вариант опыта (В)	Период химического анализа (С)		Среднее	
		до хранения	после хранения	А	АВ
2021	Контроль (без обработки)	19,4	7,0	–	13,2
	Некорневая обработка ПРК 1,0 % «БЖУ Антифриз» + 1,0 % «БЖ Дрип Са + Mg»	23,8	2,3	–	13,1
	Среднее АС	21,6	4,7	13,1	–
2022	Контроль (без обработки)	3,8	2,4	–	3,1
	Некорневая обработка ПРК 1,0 % «БЖУ Антифриз» + 1,0 % «БЖ Дрип Са + Mg»	7,5	4,4	–	5,94
	Среднее АС	5,6	3,4	4,5	–
	$НСР\ A_{05} = 4,82$ $НСР\ C_{05} = 4,82$	$АВ\ F_ф < F_т$	$НСР\ AC_{05} = 6,81$	$АВС\ F_ф < F_т$	

кислоты в плодах по окончании хранения снизился на 12,3 (2021 г.) и 1,4 мг/100 г (2022 г.) в контроле, а также на 21,4 (2021 г.) и 3,1 мг/100 г (2022 г.) в плодах варианта с некорневыми обработками (табл. 6). Содержание аскорбиновой кислоты в яблоках увеличивается, когда плоды испытывают на себе определенный стресс. На накопление аскорбиновой кислоты в плодах яблони могут влиять погодные условия вегетационного периода [26]. В результате опыта на варьирование аскорбиновой кислоты в плодах влияли погодные условия за 30 дней до съема урожая. В этот более прохладный период 2021 г. с достаточным увлажнением растений количество аскорбиновой кислоты в плодах сорта яблони Синап Орловский накопилось больше, чем в более теплый и засушливый 2022 г. (табл. 1).

Плоды опытного сорта яблони в 2022 г. были сняты с хранения 11 апреля. Продолжительность хранения изучаемых вариантов составила 211 суток. В 2023 г. плоды сорта Синап Орловский сняли с хранения 3 апреля. Продолжительность хранения изучаемых вариантов составила 208 суток.

По выходу товарных плодов (табл. 7) выявили различия между вариантами опыта на уровне значимости 0,99 %. Плоды (урожай 2021 г.) сорта яблони Синап Орловский в варианте с некорневыми обработками органоминеральными удобрениями имели в 2022 г. 92,83 % товарных плодов при отходе в 7,17 %, а плоды из контрольного варианта имели товарный выход и отход 77,96 и 22,04 % соответственно. В 2023 г. выход товарной продукции (урожай 2022 г.) после длительного хранения снизился в обоих вариантах опыта: в контрольном варианте в 2,02 раз, а в варианте опыта с некорневой обработкой в 1,39 раз по сравнению с 2022 г.

Физиологические расстройства плодов, которые возникают во время хранения, могут влиять на качество яблок и привести к экономическим потерям [27, 28]. Обработка препаратами в 2021 г. почти в три раза снизила степень поражения плодов загаром (поверхностное побурение кожицы) при хранении: с 11,8 % у контрольного варианта до 4,7 % у опытного, хотя статистически различия между вариантами не подтверждаются (табл. 8). В более жаркий и сухой 2022 г. (табл. 1) повысилось поражение плодов яблони загаром в процессе длительного хранения. По результатам второго года (2022 г.) испытаний отметили различия между вариантами опыта по поражению загаром плодов сорта яблони Синап Орловский на конец хранения (2023 г.). Плодов, пораженных загаром, было меньше в 1,76 раз после обработок баковой органоминеральной смесью. В среднем за два года исследований выявили различия

Таблица 7. Выход товарных плодов сорта яблони Синап Орловский после длительного хранения, %

Table 7. Commercial fruit yield of Sinap Orlovskiy apples after long-term storage, %

Вариант опыта (В)	Год (А)		Средние по фактору В
	2022	2023	НСР B_{01} = 19,7
Контроль (без обработки)	77,9	38,7	58,3
Некорневая обработка ПРК 1,0 % «БЖУ Антифриз» + 1,0 % «БЖ Дрип Са + Mg»	92,8	66,8	79,8
Средние по фактору А	85,4	52,7	–
НСР A_{01} = 19,7 AB $F_ф < F_т$			

Таблица 8. Повреждение загаром плодов сорта яблони Синап Орловский после длительного хранения, %

Table 8. Scald damage to Sinap Orlovskiy apples after long-term storage, %

Вариант опыта (В)	Год (А)		Средние по фактору В
	2022	2023	НСР B_{05} = 15,3
Контроль (без обработки)	11,8	55,2	33,5
Некорневая обработка ПРК 1,0 % «БЖУ Антифриз» + 1,0 % «БЖ Дрип Са + Mg»	4,7	31,4	18,0
Средние по фактору А	8,2	43,3	–
НСР A_{01} = 23,2 AB $F_ф < F_т$			

Таблица 9. Поражение горькой ямчатостью плодов сорта Синап Орловский после длительного хранения, %

Table 9. Brown spot damage to Sinap Orlovskiy apples after long-term storage, %

Вариант опыта (В)	Год (А)		Средние по фактору В
	2021	2022	НСР B_{05} = 2,34
Контроль (без обработки)	5,0	4,9	4,9
Некорневая обработка ПРК 1,0 % «БЖУ Антифриз» + 1,0 % «БЖ Дрип Са + Mg»	2,5	1,2	1,9
Средние по фактору А	3,7	3,0	–
НСР A $F_ф < F_т$ AB $F_ф < F_т$			

по поражению загаром плодов сорта яблони Синап Орловский между вариантами опыта.

В 2021 г. в контрольном варианте плодов с горькой ямчатостью (физиологическое расстройство, которое свидетельствует о несбалансированности минерального состава плодов) было идентифицировано в 2 раза больше, чем в варианте с некорневой обработкой, но различия между вариантами статистически не доказываются (табл. 9). В 2022 г., наоборот, выявлены различия между вариантами опыта по горькой ямчатости плодов яблони. Плодов, пораженных горькой ямчатостью, зафиксировали в 4 раза меньше в варианте с обработками препаратами ПРК «Белый Жемчуг».

Зарубежными исследователями проведены испытания растительных биостимуляторов с целью снижения пятнистости плодов сорта Джонатан. Используемые препараты, как и органоминеральные удобрения ПРК «Белый Жемчуг», содержат гуминовые кислоты, экстракты морских водорослей, белки, аминокислоты, цинк, кремний и витамины группы В. Ученые отмечают эффективность совместного применения хлорида кальция с экстрактом морских водорослей и с Zn-содержащим продуктом (Siliforce®) в снижении пятнистости плодов сорта Джонатан при хранении [26, 29]. Совместное внесение Ca и Zn привело к более высокой концентрации этих элементов на уровне кожицы плодов, что усилило клеточные мембраны, уменьшая развитие данного физиологического расстройства во время длительного хранения [29].

Кроме вышеперечисленных расстройств, в контрольном варианте в 2021 г. выявили перезревшие и побуревшие плоды – 2,7 и 1,2 % соответственно. Плоды, обработанные препаратами ПРК «Белый Жемчуг», не имели аналогичных повреждений. В более жаркий и сухой 2022 г. (табл. 1) в обоих вариантах опыта не отметили перезревших и побуревших плодов. Из микробиологических заболеваний в 2021 г. на плодах контрольного варианта зафиксировали незначительные повреждения (0,7 % с частичным и 0,7 % с абсолютным загниванием) плодов плодовой гнилью (монилиозом) *Monilia fructigena* Pers., которая проявлялась на зараженных ею плодах в виде небольших округлых пятен буроватого цвета, которые быстро увеличивались в размерах с образованием концентрических кругов в очаге инфицирования. В варианте с обработками плоды яблони не имели микробиологических повреждений. В 2022 г. наблюдали повреждение плодовой гнилью (монилиозом) плодов сорта яблони Синап Орловский как в контрольном варианте, так и в варианте с некорневой обработкой баковой смесью. Некорневые обработки снизили в 1,86 раз поражение плодов монилиозом.

Выводы

Впервые в условиях Орловской области изучено влияние новых органоминеральных удобрений ПРК 1,0 % раствор «Белый Жемчуг Универсальный Антифриз» + 1,0 % раствор «Белый Жемчуг Дрип Ca + Mg» на качество плодов яблони в соответствии с фазами ее развития. В результате проведенных исследований установлено влияние метрологических условий за месяц до съема на химический состав плодов сорта яблони Синап орловский. В 2021 г. в плодах яблони количество растворимых сухих веществ было больше на 6,2 %, чем в более сухой и жаркий 2022 г. Отметили тенденцию повышения растворимых сухих веществ в плодах в процессе длительного хранения.

Выявили снижение содержания титруемых кислот в плодах яблони Синап Орловский на конец хранения за годы исследований (от 1,7 до 2,7 раз в плодах контроля и от 1,9 до 2,4 раз в варианте с некорневой обработкой). Органических кислот было на 25 % меньше в плодах опытного сорта на момент их съема в сухой и более жаркий 2022 г.

Установили повышение суммы сахаров в плодах опытного сорта на конец хранения в каждом варианте опыта (в плодах контроля сахара повысились на 24,5 и 14,5 %, в варианте с обработками на 14,3 и 21,6 %), также на накопление сахаров в плодах влияли метеоусловия за месяц до съема яблок. В опыте выявили различия по сумме сахаров в плодах сорта яблони Синап орловский до и после длительного хранения.

Во время хранения в процессе дыхания плодов яблони зафиксировали значительное и прогрессирующее снижение кислотности. У всех изучаемых сортов отметили снижение содержания органических кислот на конец хранения. Это влияет на показатели сахарокислотного индекса, от которого зависит вкус плодов, которые к концу хранения становятся слаще. После длительного хранения из-за снижения содержания титруемых кислот и повышения суммы сахаров значение сахарокислотного индекса увеличилось, что положительно отразилось на органолептических качествах плодов сорта яблони Синап Орловский. Дегустационная оценка была выше у обработанных плодов – 4,7 баллов (внешний вид) и 4,9 баллов (вкус), в то время как контрольные плоды имели оценку 4,5 и 4,6 баллов соответственно.

Сложившиеся метеоусловия в годы исследования влияли на накопление аскорбиновой кислоты в плодах яблони. В 2021 г. в плодах сорта яблони Синап Орловский содержание аскорбиновой кислоты было больше на 15,93 мг/100 г, чем в 2022 г. В опытных плодах, которые были обработаны органоминеральной смесью, аскорбиновой кислоты накопилась больше на 4,4 (2021 г.) и 3,67 мг/100 г (2022 г.), чем в плодах контрольного варианта.

По выходу товарных плодов выявили различия между вариантами опыта на уровне значимости 0,99 %. Некорневые обработки увеличили в 1,62 раз выход товарных плодов опытного сорта яблони Синап Орловский. Выявили влияние метеорологических условий за месяц до съема урожая в обоих варианта опыта, которые сказались на лежкости плодов сорта яблони Синап

Орловский. В более благоприятный 2021 г. отметили в 1,62 раз больше товарных плодов опытного сорта.

За годы исследований обработка органоминеральными удобрениями в 1,86 раз снизила степень поражения плодов загаром (поверхностное побурение кожицы) сорта яблони Синап Орловский при длительном хранении. Установили влияние метеорологических условий за 30 дней до съема плодов яблони Синап Орловский в обоих варианта опыта. В более жаркий и сухой 2022 г. выявили в 5,23 раз больше плодов, пораженных загаром.

Некорневая обработка органоминеральными удобрениями в 2,64 раз снизила поражения плодов горькой ямчатостью сорта яблони Синап Орловский в процессе длительного хранения. Влияния метеорологических условий за 30 дней до съема плодов сорта яблони Синап Орловский в обоих варианта опыта не определили.

Кроме вышеперечисленных расстройств, в более жаркий и сухой 2022 г. в обоих вариантах опыта не выявили перезревшие и побуревшие плоды сорта яблони Синап Орловский. Некорневые обработки снизили в 1,86 раз поражение плодов монилиозом.

Таким образом, регулирование роста и развития растений с помощью физиологически активных веществ позволило повысить качество плодовой продукции на фоне сбалансированного органоминерального питания яблони. Проведенные испытания новых органоминеральных удобрений линии ПРК «Белый Жемчуг» показывают высокую эффективность их использования в качестве дополнительных приемов в традиционных технологиях возделывания яблони и рекомендуются для повышения качества и снижения поражения плодов физиологическими расстройствами (загар и горькая ямчатость) во время продолжительного хранения.

На основе проведенных исследований рекомендуется следующий регламент применения новых органоминеральных смесей ПРК 1,0 % раствор «Белый Жемчуг Универсальный Антифриз» + 1,0 % раствор «Белый Жемчуг Дрип Ca + Mg» в летний период с целью повышения качеств плодов сортов яблони:

1. Через 14 дней после цветения;
2. Фенофаза «плод – лещина»;
3. Фенофаза «плод – грецкий орех»;
4. За 25–30 дней до уборки урожая яблони.

Критерии авторства

З. Е. Ожерельева – формальный анализ, расследование, ресурсы, администрирование проекта, написание – первоначальный проект, обзор и редактирование. А. Л. Никитин – ресурсы, обработка данных и визуализация. П. С. Прудников и О. А. Ветрова – ресурсы.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Contribution

Z.E. Ozherelieva provided the formal analysis and resources, performed the research, wrote the review, managed the project, and drafted and proofread the manuscript. A.L. Nikitin provided resources, data curation, and visualization. P.S. Prudnikov and O.A. Vetrova provided the resources.

Conflict of interest

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

References/Список литературы

1. Ageyeva NM, Khrapov AA, Shirshova AA, Chemisova LE, Ulyanovskaya EV, Chernutskaya EA. The elemental profile of ciders made from different varieties of apples. Foods and Raw Materials. 2024;12(2):273–282. https://doi.org/10.21603/2308-4057-2024-2-604

2. FaoStat [Internet]. [cited 2023 Jun 10]. Available from: https://fao.org/faostat

3. Sosnin MD, Shorstkii IA. Cold atmospheric gas plasma processing of apple slices. Food Processing: Techniques and Technology. 2023;53(2):368–383. (In Russ.). https://doi.org/10.21603/2074-9414-2023-2-2442

4. Gudkovskii VA, Kozhina LV, Balakirev AE, Nazarov YuB, Kuzin AI. Promising technology to control bitter pit and other postharvest pathologic diseases. Acta Horticulturae. 2021;1325:151–158. https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2021.1325.23

5. Rouphael Y, Colla G. Editorial: Biostimulants in agriculture. Frontiers in Plant Science. 2020;11:40. https://doi.org/10.3389/fpls.2020.00040

6. Sangiorgio D, Cellini A, Donati I, Pastore C, Onofrietti C, Spinelli F. Facing climate change: Application of microbial biostimulants to mitigate stress in horticultural crops. Agronomy. 2020;10(6):794. https://doi.org/10.3390/agronomy10060794

7. Ali O, Ramsubhag A, Jayaraman J. Biostimulant properties of seaweed extracts in plants: Implications towards sustainable crop production. Plants. 2021;10(3):531. https://doi.org/10.3390/plants10030531

8. Zulfiqar F, Casadesús A, Brockman H, Munné-Bosch S. An overview of plant-based natural biostimulants for sustainable horticulture with a particular focus on moringa leaf extracts. Plant Science. 2020;295:110194. https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2019.110194

9. Franzoni G, Bulgari R, Ferrante A. Maceration time affects the efficacy of borage extracts as potential biostimulant on rocket salad. Agronomy. 2021;11(11):2182. https://doi.org/10.3390/agronomy11112182

10. Franzoni G, Cocetta G, Prinsi B, Ferrante A, Espen L. Biostimulants on crops: Their impact under abiotic stress conditions. Horticulturae. 2022;8(3):189. https://doi.org/10.3390/horticulturae8030189

11. Lau S-E, Teo WFA, Teoh EY, Tan BC. Microbiome engineering and plant biostimulants for sustainable crop improvement and mitigation of biotic and abiotic stresses. Discover Food. 2022;2:9. https://doi.org/10.1007/s44187-022-00009-5

12. Frioni T, Sabbatini P, Tombesi S, Norrie J, Poni S, Gatti M, *et al.* Effects of a biostimulant derived from the brown seaweed *Ascophyllum nodosum* on ripening dynamics and fruit quality of grapevines. Scientia Horticulturae. 2018;232:97–106. https://doi.org/10.1016/j.scienta.2017.12.054

13. Doroshenko TN, Petrik GF, Chumakov SS, Krivorotov SB, Maksimenko AP. Specific aspects of creating a sustainably functioning ecosystem of an organic apple garden in the South of Russia. Journal of Pharmaceutical Sciences and Research. 2018;10(7):1652–1655.

14. Mushinsky AA, Aminova EV, Avdeeva ZA, Borisova AA, Tumaeva TA. The effect of organic fertilizer on the productivity and quality of strawberries. Pomiculture and Small Fruits Culture in Russia. 2019;59:335–342. (In Russ.). https://doi.org/10.31676/2073-4948-2019-59-335-342; https://elibrary.ru/WNSKQZ

15. Doroshenko T, Ryazanova L, Petrik G, Gorbunov I, Chumakov S. Features of the economical yield formation of apple plants under non-root nutrition in the Southern Russia organic plantings. BIO Web of Conferences. 2021;34:05004. https://doi.org/10.1051/bioconf/20213405004

16. Ozherel'eva ZE, Prudnikov PS. Impact of the B-Plus white pearl (Belyi Zhemchug) preparation on the spring frost tolerance, yield and quality of apple crops. Horticulture and Viticulture. 2022;(6):24–32. (In Russ.). https://doi.org/10.31676/0235-2591-2022-6-24-32; https://elibrary.ru/CHUORY

17. Fotiric Akšic M, Dabić Zagorac D, Gašić U, Tosti T, Natić M, Meland M. Analysis of apple fruit (*Malus* × *domestica* Borkh.) quality attributes obtained from organic and integrated production systems. Sustainability. 2022;14(9):5300. https://doi.org/10.3390/su14095300

18. Doroshenko TN, Petrik GF, Ryazanova LG, Chumakov SS, Matuzok NV. Optimization of the formation of the mandarin orange economic yield in the humid sub-tropics. Annals of Agri Bio Research. 2020;25(2):302–307.

19. Ozherelieva Z, Prudnikov P, Nikitin A, Androsova A, Bolgova A, Stupina A, *et al.* Adaptogenic preparations enhance the tolerance to spring frosts, yield and quality of apple fruits. Horticulturae. 2023;9(5):591. https://doi.org/10.3390/horticulturae9050591

20. Sedov EN, Sedysheva GA, Krasova NG, Serova ZM, Gorbacheva NG, Galasheva AM, *et al.* Triploid apple cultivar Sinap orlovsky, its origin, economical and cytoembryological characteristic. Russian Agricultural Sciences. 2017;(1):14–18. (In Russ.). [Происхождение, хозяйственная и цитоэмбриологическая характеристика триплоидного сорта яблони Синап орловский / Е. Н. Седов [и др.] // Российская сельскохозяйственная наука. 2017. № 1. С. 14–18.]. https://www.elibrary.ru/XTDNOR

21. Program and methodology for studies on fruits, berries, and nuts. Orel: VNIISPK; 1999. 608 p. (In Russ.). [Программа и методика сортоизучения плодовых, ягодных и орехоплодных культур. Орел: ВНИИСПК, 1999. 608 с.]. https://www.elibrary.ru/YHAOZT

22. Nikitin AL, Makarkina MA. Long-term refrigerated storage guidelines for central Russia: highly scab-resistant apple varieties bred by Russian Research Institute for Fruit Breeding. Orel: VNIISPK; 2018. 48 p. (In Russ.). [Никитин А. Л., Макаркина М. А. Рекомендации по длительному хранению плодов иммунных и высокоустойчивых к парше сортов яблони селекции ВНИИСПК в фруктохранилищах-холодильниках (для средней полосы России). Орел: ВНИИСПК, 2018. 48 с.]. https://www.elibrary.ru/ZATBDF

23. Dement′eva MI, Vygonskiy MI. Fruit, vegetable, and potato diseases during storage. Moscow: Agropromizdat; 1988. 231 p. (In Russ.). [Дементьева М. И., Выгонский М. И. Болезни плодов, овощей и картофеля при хранении. М.: Агропромиздат, 1988. 231 с.].

24. Nikitin AL, Makarkina MA. Effect of meteorological conditions on storability of the scab-immune columnar apple varieties. Food Processing: Techniques and Technology. 2019;49(4):545–554. (In Russ.). https://doi.org/10.21603/2074-9414-2019-4-545-554; https://www.elibrary.ru/GWATGF

25. Sedov EN, Makarkina MA, Levgerova NS. Biochemical and technological fruit description of apple gene pool. Orel: VNIISPK; 2007. 312 p. (In Russ.). [Седов Е. Н., Макаркина М. А., Левгерова Н. С. Биохимическая и технологическая характеристика плодов генофонда яблони. Орел: ВНИИСПК, 2007. 312 с.]. https://www.elibrary.ru/YGNVIR

26. Soppelsa S, Kelderer M, Casera C, Bassi M, Robatscher P, Andreotti C. Use of biostimulants for organic apple production: Effects on tree growth, yield, and fruit quality at harvest and during storage. Frontiers in Plant Science. 2018;(9):1342. https://doi.org/10.3389/fpls.2018.01342

27. Gago CML, Guerreiro AC, Miguel G, Panagopoulos T, da Silva MM, Antunes MDC. Effect of calcium chloride and 1-MCP (Smartfresh™) postharvest treatment on "Golden Delicious" apple cold storage physiological disorders. Scientia Horticulturae. 2016;211:440–448. https://doi.org/10.1016/j.scienta.2016.09.017

28. Mattheis JP, Rudell DR, Hanrahan I. Impacts of 1-methylcyclopropene and controlled atmosphere established during conditioning on development of bitter pit in "Honeycrisp" apples. Hortscience. 2017;52(1):132–137. https://doi.org/10.21273/HORTSCI11368-16

29. Soppelsa S, Kelderer M, Testolin R, Zanotelli D, Andreotti C. Effect of biostimulants on apple quality at harvest and after storage. Agronomy. 2020;10(8):1214. https://doi.org/10.3390/agronomy10081214

ISSN 2074-9414 (Print)
ISSN 2313-1748 (Online)

https://doi.org/10.21603/2074-9414-2024-2-2511
https://elibrary.ru/IIUTYY

Оригинальная статья
https://fptt.ru

Разработка СВЧ-установки для термообработки отходов убоя животных

Е. В. Воронов

Нижегородский государственный инженерно-экономический университет, Княгинино, Россия

Поступила в редакцию: 25.09.2023
Принята после рецензирования: 29.01.2024
Принята к публикации: 06.02.2024

Е. В. Воронов: e_voronov@list.ru,
https://orcid.org/0000-0002-9867-5860

© Е. В. Воронов, 2024

Аннотация.
В сутки в РФ перерабатывают 126,3 т ветеринарных конфискатов для кормовых целей. При производительности перерабатывающей установки 35 кг/ч необходимое количество должно составлять не менее 7 тыс. шт. Базовые аппараты являются энергоемкими, поэтому необходимо снизить эксплуатационные затраты на термообработку сырья с сохранением кормовых показателей. Цель исследования – разработка установки с энергоподводом в электроприводном резонаторе и обоснование режимов работы.
Объектом исследования являлись слизистые субпродукты, требующие нейтрализации запаха и обеззараживания при термообработке. Алгоритм работы: исследовать динамику нагрева сырья; разработать цифровую модель установки; провести компьютерное моделирование электродинамических процессов в резонаторе; обосновать режимы работы установки: напряженность коронного разряда и электрического поля в резонаторе; вычислить эффективность экрана, мощность генератора, производительность установки, энергетические затраты.
Разработали технологию и установку, совмещающую процессы термообработки, обеззараживания и нейтрализации запаха в непрерывном режиме комплексным воздействием электромагнитных излучений, при сниженных эксплуатационных затратах. В электроприводном резонаторе, соосно расположенном в экранирующем корпусе установки, расположены коронирующая щетка, электрогазоразрядные лампы бактерицидного потока УФ-лучей, ножи, шнеки и излучатели от магнетронов воздушного охлаждения. Средний периметр кольцевого объема между резонатором и корпусом, где возбуждается бегущая волна за счет электромагнитного излучения через перфорацию, кратен половине длины волны. Установлено, что термообработку сырья с обеззараживанием и вытопкой жира можно провести в электроприводном резонаторе с собственной добротностью 80 000 и мощностью генератора 4,4 кВт, производительностью 35–40 кг/ч и энергетическим затратами 0,25–0,28 кВт·ч/кг. При напряженности электрического поля 5 кВ/см и коронного разряда 9,79 кВ/см, обеспечивающей необходимую концентрацию озона за счет коронирования бактерицидных ламп, происходит снижение бактериальной обсемененности продукта до допустимого уровня.
Практическую значимость представляет установка с энергоподводом в электроприводной резонатор и обоснованные режимы ее работы, позволяющие снизить эксплуатационные затраты на термообработку сырья и сохранить кормовые показатели продукта.

Ключевые слова. Субпродукты, СВЧ-установка, электрогазоразрядные лампы, генератор килогерцовой частоты, перфорированный барабан-резонатор, коронирующие иглы, спиральный и винтовой шнеки

Для цитирования: Воронов Е. В. Разработка СВЧ-установки для термообработки отходов убоя животных // Техника и технология пищевых производств. 2024. Т. 54. № 2. С. 369–381. https://doi.org/10.21603/2074-9414-2024-2-2511

https://doi.org/10.21603/2074-9414-2024-2-2511
https://elibrary.ru/IIUTYY

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

Electrophysical Microwave Installation for Heat Treatment of Animal Slaughter Waste

Evgeny V. Voronov

Nizhny Novgorod State University of Engineering and Economics, Knyaginino, Russia

Received: 25.09.2023
Revised: 29.01.2024
Accepted: 06.02.2024

Evgeny V. Voronov: e_voronov@list.ru,
https://orcid.org/0000-0002-9867-5860

© E.V. Voronov, 2024

Abstract.
Every day, the Russian Federation processes 126.3 tons of animal slaughter waste into animal feed. With an installation capacity of 35 kg/h, the required quantity is 7000 units. As a rule, the devices are energy-intensive. The problem is to reduce the operating costs of heat treatment of raw materials while maintaining the feed quality. The article introduces a new installation powered by an electrically driven resonator with rationalized operating modes.
The research featured mucous by-products that require thermal treatment to neutralize the smell and disinfect the raw material. The authors investigated the dynamics of heating and used the data obtained to develop a digital installation model and test the electrodynamics in the resonator. After that, they rationalized the operating modes, i.e., corona discharge, electric field, screen efficiency, generator power, installation performance, and energy costs.
The complex action of electromagnetic radiation provided a continuous combined heat treatment, disinfection, and odor neutralization with reduced operating costs. The electrical resonator was coaxially located in the shielding and contained a coronating electrode, electric bactericidal UV gas discharge lamps, knives, screws, and emitters from air-cooled magnetrons. The annular volume between the resonator and the coat excited the traveling wave by electromagnetic radiation through the perforation. Its average perimeter was a multiple of half the wavelength. The heat treatment with disinfection and fat rendering required an intrinsic quality factor of 80 000, a generator power of 4.4 kW, a productivity of 35–40 kg/h, and energy costs of 0.25–0.28 kWh/kg. When the electric field was 5 kV/cm and the corona discharge was 9.79 kV/cm, the corona of bactericidal lamps provided the required ozone concentration and the bacterial contamination fell down to an acceptable level.
The new installation with an electrical resonator reduced operating costs for heat treatment of animal slaughter waste and maintained the high-quality of the resulting feed products.

Keywords. By-products, microwave installation, electric gas discharge lamps, kilohertz frequency generator, perforated resonator drum, corona needles, spiral and screw augers

For citation: Voronov EV. Electrophysical Microwave Installation for Heat Treatment of Animal Slaughter Waste. Food Processing: Techniques and Technology. 2024;54(2):369–381. (In Russ.). https://doi.org/10.21603/2074-9414-2024-2-2511

Введение

Наиболее трудоемкими в обработке субпродуктами являются четырехкамерные желудки крупного рогатого скота и мелкого рогатого скота, а также желудки свиней. Некоторые слизистые субпродукты из-за малой пищевой ценности и трудоемкости обработки (промыть, разрезать вдоль, обезжирить, очистить от слизистой оболочки) используют только для кормовых целей. При переработке отходов убоя животных, например, желудка жвачных животных (рубец, книжка, сетка, сычуг), выделяется специфический запах [1]. Поэтому при термообработке такого сырья при производстве корма для животных с вытопкой жира необходимо нейтрализовать запах и обеззаразить продукт. При производстве комбикорма из желудка жвачных животных (рубца, книжки, сетки и сычуга) его шпарят и очищают от слизистой оболочки в центрифуге при температуре воды 65–68 °С в течение 5–6 мин. Тем не менее неприятный запах остается. Это сырье можно использовать как корм для животных только после термообработки, обеззараживания и удаления запаха [2–4].

В связи с этим разработка установки с источниками электрофизических факторов для термообработки отходов убоя животных, позволяющей реализовать указанные процессы в непрерывном режиме, актуальна.

Известна норма выхода субпродуктов при переработке крупного рогатого скота в процентах к живой массе: непищевая обрезь – 0,17 %, трахея – 0,14 %, сычуг обработанный и свиной желудок – 0,21 %, рубец – 1,32 % [1]. В среднем это 2 %, т. е. 33 470 т субпродуктов второй категории накапливается в год по России в мясном животноводстве. В среднем в сутки следует переработать 126,3 т субпродуктов второй категории.

Слизистые продукты следует перерабатывать в течение 3 ч после убоя, суммарная производительность установок должна составлять 42 100 кг/ч. Если производительность проектируемой установки с источниками электрофизических факторов составляет 35−40 кг/ч, то необходимое их количество в пределах 1000 шт.

С учетом вида убойного скота накапливаются субпродукты говяжьи, конские, оленьи, верблюжьи, бараньи, свиные. Следовательно, количество необходимых установок, включая резервные, для РФ составит 6−7 тыс. Существуют сотни установок для измельчения и плавления жиросодержащего мясного сырья. Разработанная нами установка наиболее близка к центробежной машине АВЖ-245 (измельчитель-плавитель). Основным рабочим органом машины является перфорированный электроприводной барабан, подвижный и неподвижные ножи. Под действием центробежной силы измельченное сырье попадает через перфорацию в кольцевое пространство между корпусом и барабаном, куда подается острый пар под давлением 0,15 МПа. Недостатки: высокий расход пара − на 1 т сырья 100 кг; рабочий процесс происходит при смешивании жирового сырья с горячей водой, что ухудшает кормовую ценность продукта. При такой технологии вытопки жира из такого сырья, как желудок жвачных животных, нейтрализовать неприятный запах не удается.

Известны СВЧ-установки с резонаторами разного конструктивного исполнения для термообработки сырья [5−9]. Эти установки эффективно работают, но в них не предусмотрены источники электрофизических факторов, обеспечивающие нейтрализацию неприятного запаха при переработке сырья. Для термообработки камер желудка жвачных животных с удалением неприятного запаха установки следует доукомплектовать источниками озона и бактерицидного потока УФ-лучей. В нашей научной школе разработаны СВЧ-установки для термообработки мясного сырья в непрерывном режиме. Основной составной частью установки с СВЧ-энергоподводом является объемный резонатор. Поэтому разработаны цифровые модели резонаторов и проведено компьютерное моделирование электродинамических процессов в резонаторах. От его электродинамических параметров, а именно напряженности электрического поля и собственной добротности резонаторов, в значительной степени зависит режимы термообработки каждого вида сырья, позволяющие снизить эксплуатационные затраты с сохранением кормовой ценности продукта. Но эти установки также без источников электрофизических факторов [10−15].

Научная проблема – снижение эксплуатационных затрат на термообработку некондиционного вторичного мясного сырья решается разработкой технологии и технического средства непрерывно-поточного действия с источниками электрофизических факторов в электроприводном цилиндрическом резонаторе, позволяющих при тонком измельчении сырья сохранить кормовую ценность готового продукта и нейтрализовать неприятный запах.

Цель статьи – исследовать динамику нагрева камер желудка крупного рогатого скота и разработать радиогерметичную установку для термообработки и обеззараживания в непрерывном режиме при тонком измельчении боенских отходов с источниками электрофизических факторов, включая сверхвысокочастотный энергоподвод, бактерицидный поток УФ-лучей и озон определенной концентрации в электроприводном перфорированном цилиндрическом резонаторе.

Объекты и методы исследования

В рамках этой статьи использовали материалы заявки на изобретение (заявка № 2023123873). Моделирование распределения электромагнитного поля в резонаторе проводили с помощью программы CST Microwave Studio [16, 17]. Исследуемым сырьем являются слизистые субпродукты 2-й категории, имеющие питательную ценность ниже, чем питательная ценность мяса, являющиеся дополнительным источником животного белка. Это желудки жвачных животных (рубец, сетка, книжка, пищевод, сычуг), свиные желудки, некондиционные кишки, трахеи говяжья и свиная, селезенка и другое мясное сырье, требующее нейтрализации запаха и обеззараживания при термообработке. На рисунке 1 приведено исследуемое сырье − камеры желудка крупного рогатого скота, полученное после убоя 01.08.2023 г. из фермерского хозяйства «КФХ Пирогова Р. А.».

На основе диэлектрических, физико-механических характеристик некондиционного сырья, специфических особенностей электромагнитного поля СВЧ, теории оптического излучения и коронного разряда, системного подхода к комплексу теоретических и экспериментальных результатов разработана установка с цилиндрическим электроприводным резонатором для термообработки, обеззараживания и нейтрализации запаха жиросодержащих отходов убоя животных воздействием электрофизических факторов. На основании анализа исследований и классификации конструктивных решений выявили перспективную модель установки с источниками электромагнитного поля СВЧ и бактерицидного потока ультрафиолетовых излучений коронного разряда.

Результаты и их обсуждение

Провели экспериментальные исследования динамики нагрева камер желудка крупного рогатого скота в микроволновой системе «генератор – резонатор – нагрузка» SUPRA-850 при мощности магнетрона 850 Вт. Изучение динамики нагрева сырья позволяет уточнить режимы работы разрабатываемой установки, выбрать оптимальную удельную мощность генератора, что позволит подобрать оптимальное время обработки сырья и температуру обработки. В перспективе это приведет к снижению эксплуатационных затрат



Рисунок 1. Исследуемое сырье (камеры желудка крупного рогатого скота): a) рубец; b) сетка; c) книжка; d) сычуг

Figure 1. Cattle stomach chambers used as raw material: a) rumen; b) reticulum; c) psalterium; d) abomasum

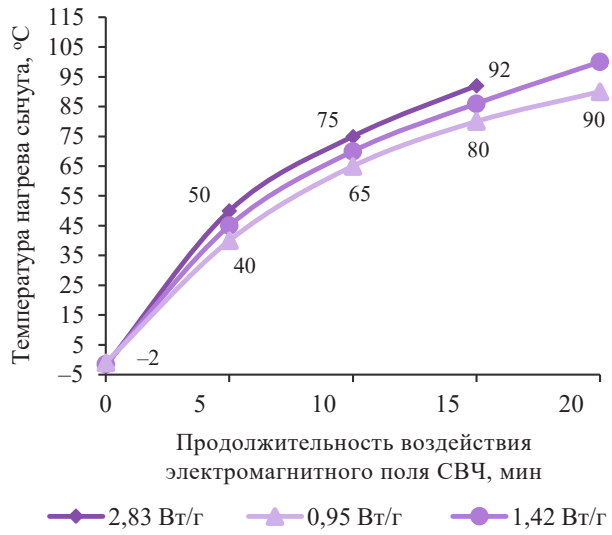


Рисунок 2. Динамика диэлектрического нагрева сычуга крупного рогатого скота при разных удельных мощностях генератора: 2,53, 1,42, 0,95 Вт/г

Figure 2. Dielectric heating of cattle rennet at 2.53, 1.42, 0.95 W/g

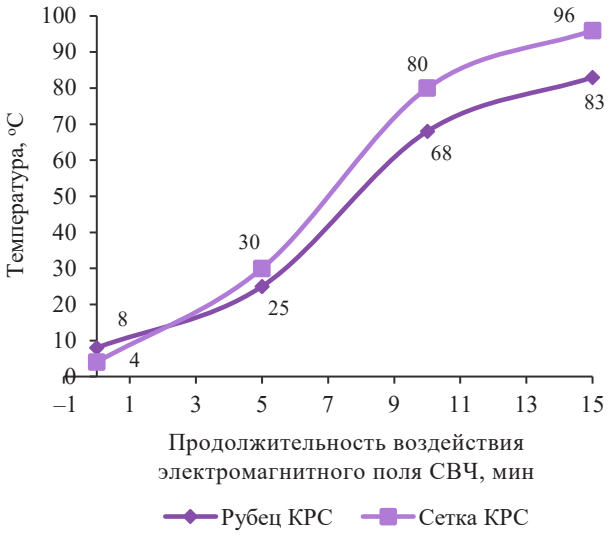


Рисунок 3. Динамика диэлектрического нагрева измельченных кусков рубца (1,8 Вт/г) и сетки (2 Вт/г)

Figure 3. Dielectric heating of crushed rumen (1.8 W/g) and reticulum (2 W/g)

при термообработке сырья и сохранению кормовых показателей готового продукта при испытании натурного лабораторного образца установки. На рисунке 2 приведены результаты исследования динамики диэлектрического нагрева сычуга крупного рогатого скота. Они позволяют оценить скорость нагрева сычуга крупного рогатого скота, соизмерить продолжительность воздействия электромагнитного поля СВЧ для трех разных удельных мощностей генератора: 2,53, 1,42, 0,95 Вт/г (что достигается регулировкой закладываемой массы сырья). Для того чтобы в полной мере использовать положительное воздействие микроволнового фактора, термообработку необходимо проводить от 10 до 20 мин, что позволит достичь температуры сычуга от 80 до 100 °С (контролировалось тепловизором FLUKE TISS 45), в зависимости от удельной мощности генератора.

Для увеличения производительности установки и равномерного нагрева сырья его следует тонко измельчать и непрерывно перемешивать в резонаторе с 4 магнетронами по 1100 Вт, что позволит достичь эффективности переработки за короткий промежуток времени.

Результаты экспериментальных исследований динамики диэлектрического нагрева рубца и сетки крупного рогатого скота (рис. 3) позволяют оценить их скорость нагрева и определить продолжительность воздействия электромагнитного поля СВЧ при разных удельных мощностях генератора: 1,8 и 2 Вт/г. Они

показывают, что сетка и рубец крупного рогатого скота нагреваются в электромагнитном поле СВЧ с разной скоростью. При вариации продолжительности воздействия от 0 до 15 мин температура в измельченных кусках сетки составила 96 °С, а в измельченных кусках рубца − 83 °С.

Провели эксперименты по выявлению эффективных удельных мощностей генератора, продолжительности воздействия и температуры нагрева книжки крупного рогатого скота. Результаты исследования температуры нагрева готового продукта, выявленные на основе проведенного эксперимента при помощи тепловизора FLUKE TISS 45 (рис. 4), показывают, что при мощности генератора 6,64 Вт/г за 5 мин можно получить высушенный продукт из измельчённой книжки (рис. 4). При этом массовая доля влаги в книжке составила 86 %, а влажность книжки после воздействия электромагнитного поля СВЧ – 14 %. Поэтому для переработки измельченной книжки актуальной является сушка при сниженных энергетических затратах.

На основе проведенных экспериментальных исследований динамики диэлектрического нагрева сырья (камер желудка крупного рогатого скота), выявленных эффективных удельных мощностей генератора, продолжительности воздействия, температуры и скорости нагрева сырья разработана установка с цилиндрическим электроприводным резонатором, совмещающая комплексное воздействие электрофизических факторов с тонким его измельчением и перемешиванием. Установка для термообработки и обеззараживания с нейтрализацией запаха при тонком измельчении жиросодержащих отходов убоя животных воздействием электрофизических факторов приведена на рисунке 5. Она содержит в неферромагнитном цилиндрическом корпусе *3* соосно расположенный перфорированный цилиндрический электроприводной барабан-резонатор *7*. На перфорированном нижнем основании барабана-резонатора жестко установлен подвижный неферромагнитный нож *10* с радиально расположенными лезвиями. По высоте боковой поверхности барабана-резонатора параллельно расположены неподвижные ножи *9* со сдвигом на 120° по периметру барабана-резонатора. Верхнее перфорированное основание барабана-резонатора представлено как неферромагнитная перфорированная кольцевая поверхность, состыкованная с периметром боковой поверхности. На всей кольцевой поверхности расположена неферромагнитная коронирующая щетка *8*. Над центральным отверстием верхнего основания барабана-резонатора на верхнем основании неферромагнитного цилиндрического корпуса со сдвигом на 120° расположены волноводы с магнетронами воздушного охлаждения, излучатели которых направлены в перфорированный цилиндрический барабан-резонатор. По центру верхнего основания корпуса *3* расположена неферромагнитная загрузочная ёмкость *1* с заслонкой, внутри которой установлен неферромагнитный электроприводной спиральный шнек *2*. С внутренней стороны верхнего основания корпуса над неферромагнитной коронирующей щеткой с равномерным радиальным сдвигом расположены электрогазоразрядные лампы бактерицидного потока УФ-лучей *5*, подключенные к источникам килогерцовой частоты. Неферромагнитная приемная ёмкость *13* расположена под нижним основанием цилиндрического

После термообработки без измельчения, 5 мин, 4,25 Вт/г, 80 °С.



Термообработка измельченной книжки, 5 мин, 6,64 Вт/г, 97 °С





Масса книжки, измеренная с помощью электронных весов M-ER:
начальная − 195 г, после воздействия электромагнитного поля СВЧ − 27,3 г.
Массовая доля удаленной влаги из книжки составляет (195-27,3)/195 = 0,86.
Это значит книжка высохла и имеет влажность 14 %.

Рисунок 4. Визуализация вареного в электромагнитном поле СВЧ сырья (книжки крупного рогатого скота)

Figure 4. Psalterium cooked in electromagnetic microwave field

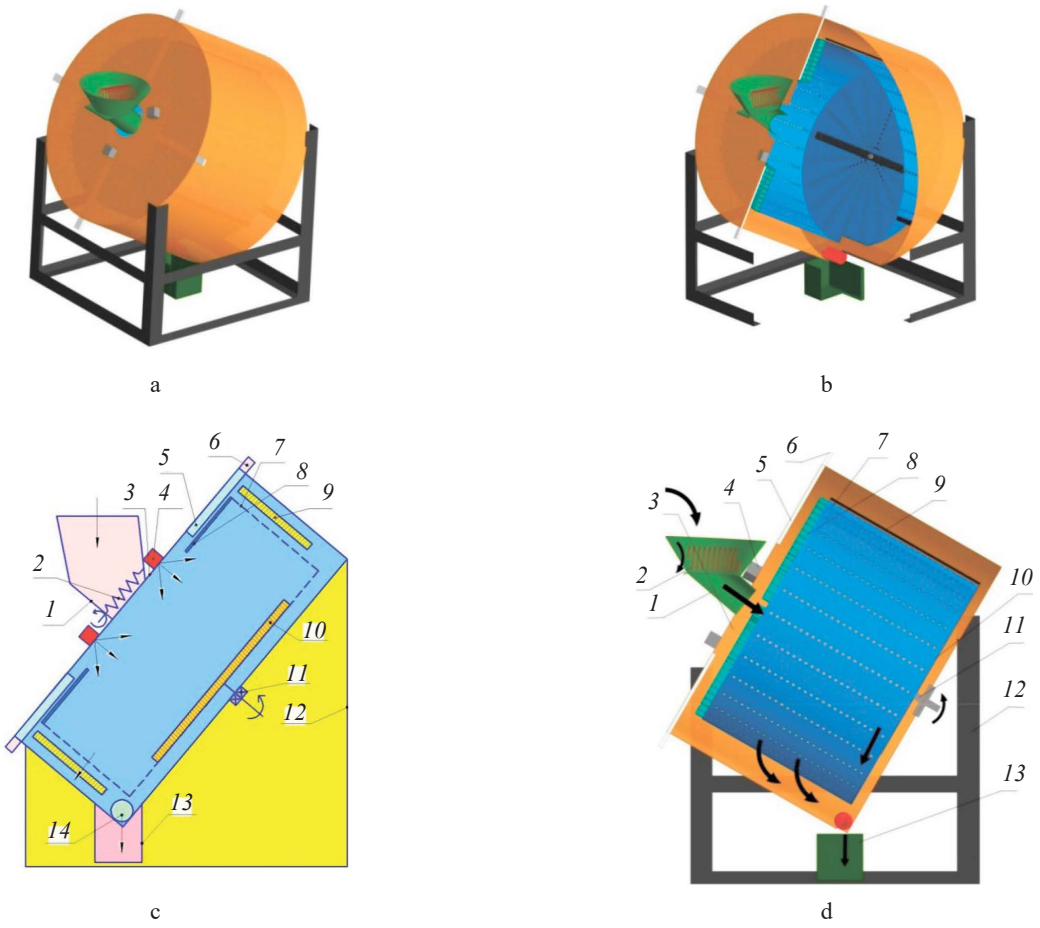


Рисунок 5. Установка с цилиндрическим электроприводным резонатором для термообработки, обеззараживания и нейтрализации запаха жиросодержащих отходов убоя животных воздействием электрофизических факторов: а) общий вид; б) общий вид в разрезе; в) схематическое изображение установки; г) установка в разрезе, с позициями; *1* – загрузочная ёмкость; *2* – электроприводной спиральный шнек; *3* – неферромагнитный цилиндрический корпус; *4* – магнетроны; *5* – электрогазоразрядные лампы бактерицидного потока УФ-лучей; *6* – источники килогерцовой частоты; *7* – перфорированный цилиндрический электроприводной барабан-резонатор; *8* – неферромагнитная коронирующая щетка; *9* – неподвижные ножи; *10* – подвижный нож; *11* – вал электропривода; *12* – каркас для монтажа; *13* – приемная ёмкость; *14* – неферромагнитный винтовой шнек

Figure 5. Installation with a cylindrical electric resonator for heat treatment, disinfection, and odor neutralization of fat-containing animal slaughter waste: a) general view; b) general cross-sectional view; c) scheme; d) installation in section, with positions; *1* – loading chamber; *2* – electrically driven spiral screw; *3* – non-ferromagnetic cylindrical body; *4* – magnetrons; *5* – UV bactericidal electric gas-discharge lamps; *6* – kilohertz frequency sources; *7* – perforated cylindrical electric drum-resonator; *8* – non-ferromagnetic coronating electrode; *9* – fixed knives; *10* – movable knife; *11* – electric drive shaft; *12* – frame; *13* – receiving tank; *14* – non-ferromagnetic screw

корпуса, где в кольцевом зазоре между ним и барабаном-резонатором расположен электроприводной винтовой шнек *14*. Установка смонтирована на каркасе *12*.

Технологический процесс термообработки, обеззараживания и нейтрализации запаха жиросодержащих отходов убоя животных воздействием электрофизических факторов происходит следующим образом. Загрузить измельченные отходы убоя животных, включая камеры жвачных животных (рубец, сетка, книжка, сычуг), в загрузочную ёмкость *1* при закрытой заслонке. Включить электропривод барабана-резонатора *7*. Включить электропривод неферромагнитного винтового шнека *14*. Открыть заслонку в загрузочной ёмкости и включить неферромагнитный спиральный шнек *2*. После этого измельченные куски жиросодержащих отходов убоя животных попадают в барабан-резонатор через центральные отверстия на основаниях корпуса *3* и барабана-резонатора. На основании барабана-резонатора закреплен подвижный нож для тонкого измельчения сырья и отбрасывания его к внутренней поверхности барабана. Зазор между неподвижными ножами и барабаном-резонатором регулируется в зависимости от вида вторичного сырья. Далее включить вентиляторы и магнетроны *4* воздушного охлаждения.

В барабане-резонаторе возбуждается электромагнитное поле сверхвысокой частоты (стоячая волна

с частотой 2450 МГц и длиной волны 12,24 см). Включить источники *6* килогерцовой частоты. Частота импульсно-моделированных высокочастотных колебаний 110 кГц. После этого электрогазоразрядные лампы *5* бактерицидного потока УФ-лучей загораются и при соприкосновении неферромагнитной щеткой *8* начинают коронировать. За счет электромагнитного поля СВЧ мощность электрогазоразрядных ламп увеличивается, они ярче горят и сильнее коронируют, увеличивается концентрация озона в резонаторе. При вращении барабана-резонатора за счет коронного разряда между электрогазоразрядными лампами *5* и неферромагнитными щетками происходит озонирование воздуха. Озон и бактерицидный поток УФ-лучей (в диапазоне волн 254−257 нм) распространяются внутри неферромагнитного перфорированного электроприводного барабана-резонатора. УФ-лучи оказывают бактерицидное воздействие. Озон обладает сильным обеззараживающим действием на сырье. За счет токов поляризации жиросодержащее тонкоизмельченное сырье в электромагнитном поле СВЧ нагревается до 85−95 °С, жир вытапливается при вращении барабана резонатора. За счет центробежной силы сырье отбрасывается к перфорированной боковой поверхности барабана-резонатора (диаметр отверстий 1,2−6,0 мм). Тонко измельченное сырье прижимается к обечайке барабана-резонатора. Вытопленный жир просачивается через перфорацию барабана-резонатора в кольцевое пространство между резонатором и цилиндрическим корпусом *3*. Шквара по мере уменьшения размеров частиц также проходит через перфорацию барабана-резонатора вместе с вытопленным жиром. В связи с тем, что резонатор перфорирован, в этом кольцевом пространстве возбуждается электромагнитное поле бегущей волны, поэтому здесь смесь жира и шквары дополнительно эндогенно нагревается и озонируется.

Комплексное воздействие электрофизических факторов бактерицидного потока УФ-лучей, озона и электрического поля высокой напряженности (более 1,2 кВ/см) угнетает процессы размножения и роста микроорганизмов, разрушая их вегетативные формы при термообработке сырья в непрерывном режиме. За счет озона и бактерицидного потока УФ-лучей нейтрализуется запах. Озон уничтожает микроорганизмы, разрушая их клетки изнутри и снаружи, не позволяя им размножаться. Применяя несколько магнетронов воздушного охлаждения, можно увеличить число возбуждаемых в заданном диапазоне видов колебаний в резонаторе и повысить равномерность нагрева сырья [18, 19]. Подвижный неферромагнитный нож *10* с радиально расположенными лезвиями обеспечивает при вращении вместе с барабаном-резонатором *7* тонкое измельчение жиросодержащих отходов, интенсивное перемешивание и отбрасывание к внутренней поверхности барабана-резонатора. Неподвижные ножи *9* нарезают шквару, которая за счет центробежной силы вместе вытопленным жиром падает в отверстие на боковой поверхности барабана-резонатора. Готовый продукт (шквара и жир) стекает в неферромагнитный винтовой шнек *14*, т. к. центробежная установка расположена под наклоном к горизонтальной плоскости. Угол наклона установки подобран с учетом угла стекания вытопленного жира вместе со шкварой. С помощью винтового шнека готовый продукт выгружается в неферромагнитную приемную ёмкость *13*. Неферромагнитный винтовой шнек ограничивает излучение через отверстие, предназначенное для выгрузки продукта. Неферромагнитный спиральный шнек *2* выполняет две функции: равномерной подачи сырья в барабан-резонатор и ограничения излучений как замедляющей системы при определенном соотношении длины витка спирали к ее шагу. Если диаметр провода мал, по сравнению с диаметром спирали, то ее можно рассматривать как анизотропный цилиндр, проводимость которого бесконечна в направлении витков спирали и равна нулю в перпендикулярном направлении. Производительность установки зависит от количества магнетронов, электрогазоразрядных ламп и мощности источников килогерцовой частоты, вида жиросодержащего сырья, площади живого сечения перфорации барабана-резонатора и его окружной скорости. При термообработке сырья в электромагнитном поле сантиметрового диапазона в перфорированном цилиндрическом барабане-резонаторе изменение диэлектрических параметров сырья (диэлектрической проницаемости, фактора диэлектрических потерь) мало влияет на режим работы магнетронного генератора. Размеры цилиндрического резонатора выбраны кратными нескольким длинам полуволн. Средний периметр кольцевого объема между резонатором и корпусом, где возбуждается бегущая волна за счет электромагнитного излучения через перфорацию, кратен половине длины волны. Кольцевой объем будет выполнять функцию кольцевого резонатора. Объемный резонатор является системой с распределенными параметрами, обладающими множеством резонансных частот. Цилиндрический резонатор возбуждается на одной из резонансных частот, если излучатель магнетрона направлен через специальный волновод и нем устанавливаются стоячие волны, в узлах которых нагрев сырья невозможен (энергия сантиметровых волн в узле равна нулю). Поэтому цилиндрический резонатор выполнен в виде электроприводного барабана, чтобы узлы стоячих волн непрерывно перемещались. Одновременно сырье перемешивается и измельчается. Установка содержит несколько магнетронов воздушного охлаждения, что также за счет интерференции волн увеличивает мощность и напряженность электрического поля. В цилиндрическом резонаторе электромагнитного поля СВЧ возбуждается от 3–4 магнетронов, излучатели которых через соответствующие волноводы направлены в его объем.

На скорость нагрева сырья сильно влияет напряженность электрического поля, количество сырья в

резонаторе (удельная мощность генератора) и изменение его диэлектрических параметров в зависимости от температуры нагрева. В установке между электрогазоразрядными лампами бактерицидного потока УФ-лучей, запитанными от генератора килогерцовой частоты, и коронирующими иглами создается неоднородное электрическое поле, напряженность которого максимальна на иголках. Преобразование высоковольтного напряжения в коронный разряд необходимой силы происходит благодаря электрогазоразрядным лампам. Сложные физические и электрохимические процессы с участием инертных газов в лампе позволяют получить несколько факторов. Инертный газ приобретает свойства электропроводника, затем через слой воздуха между лампой и коронирующими иглами замыкается на землю. В результате возникает коронный разряд, следовательно, происходит выделение озона, тепла и ультрафиолетового излучения в пространстве. Если уменьшить межэлектродный промежуток (0,5–1,0 см), то напряженность электрического поля достигает такого значения, при котором начинается ионизация воздуха. Ионизация и возбуждение молекул газа в коронном разряде наблюдается только в области наибольшей напряженности электрического поля, вблизи поверхности с коронирующими иглами. В остальной части разрядного промежутка токопрохождение осуществляется за счет дрейфового движения электронов или ионов, образовавшихся в коронирующей области.

В процессе термообработки следует контролировать температуру продукта. Неотъемлемой частью процесса термообработки сырья является контроль микробиологической безопасности жира и шквары. При проведении переработки в течение трех часов после убоя животных, соблюдении санитарных правил и условий хранения продукта (жира и шквары) повышения общего микробного числа выше предельно допустимого уровня 500 тыс. КОЕ/г не происходит. Мощность потока излучений установкой следует контролировать с помощью прибора ПЗ-41, чтобы соблюдать электромагнитную безопасность на уровне 10 мкВт/г.

По известной методике рассчитаны основные параметры коронного разряда. Для цилиндрической системы электродов величина напряженности электрического поля, при которой наблюдается возникновение коронного разряда вблизи поверхности цилиндрического электрода (электрогазоразрядной лампы), определяется эмпирической формулой Пика:

$$E_z = 31 \times \delta \times \left[1 + \left(\frac{0{,}308}{\sqrt{\delta \times r}}\right)\right] \quad (1)$$

где δ – давление газа, атм.; r – радиус коронирующего цилиндра, см.

В установке радиус электрогазоразрядной лампы равен $r_2 = 1$ см, радиус коронирующих неферромагнитных иголок (иголки в щетке) $r_1 = 0{,}1$ см, воздух с давлением 50 мм рт. ст.

Тогда напряженность электрического поля у поверхности коронирующих игл, при которой начинается коронный разряд, составляет

$$E_z = 31 \times \frac{50}{760} \times \left[1 + \left(\sqrt{\frac{50}{760} \times 0{,}1}\right)\right] = 9{,}787 \quad (2)$$

По формуле цилиндрического конденсатора определена разность потенциалов, соответствующая этой напряженности электрического поля:

$$U_z = E_z \times r_1 \times ln\frac{r_2}{r_1} = 9787 \times 0{,}1 \times ln\frac{1}{0{,}1} = 2253 \quad (3)$$

Эффективность экранирования неферромагнитного корпуса, т. е. отношение напряженностей электрического поля в данном месте при отсутствии экрана и при его наличии без отверстий и щелей считают бесконечно большой. Однако выполнение сплошного цилиндрического экранирующего корпуса при работе установки в непрерывном режиме невозможно, т. к. есть отверстия для загрузки сырья и выгрузки продукта. Эффективность экранирования установки определяли по методике А. В. Донского:

$$Э = \frac{1}{4} \times \left(\frac{S_{корп}}{S_o}\right)^{\frac{3}{2}} \quad (4)$$

где $S_{корп.}$ – площадь поверхности экранирующего корпуса, м^2; S_o – площадь отверстия, м^2.

Площадь поверхности цилиндрического корпуса:

$$S_{корп} = 2 \times \pi \times \left(R \times H + R^2\right) = 2 \times$$
$$\times 3{,}14 \times \left(0{,}45 \times 0{,}6 + 0{,}45^2\right) = 2{,}97 \quad (5)$$

Так как на экранирующем корпусе три отверстия (смотровое окно ($Э_1$), отверстия под загрузочной ($Э_2$) и приемной ($Э_3$) ёмкостями), то общая эффективность экранирования (Э) вычисляется по формуле

$$\frac{1}{Э} = \frac{1}{Э_1} + \frac{1}{Э_2} + \frac{1}{Э_3} \quad (6)$$

Площадь окна для визуального наблюдения за процессом равна

$$S_{o1} = 3{,}14 \times 0{,}025 = 0{,}0785 \text{ м}^2 \quad (7)$$

Тогда эффективность экранирования смотрового окна составляет

$$Э_1 = \frac{1}{4} \times \left(\frac{S_{корп}}{S_{o1}}\right)^{\frac{3}{2}} = 0{,}25 \times \left(\frac{2{,}97}{0{,}0785}\right)^{1{,}5} = 58{,}18 \quad (8)$$

Эффективность экранирования отверстия под загрузочной ёмкостью:

$$S_{o2} = 3{,}14 \times 0{,}306^2 = 0{,}294 \text{ м}^2$$

$$Э_2 = \frac{1}{4} \times \left(\frac{S_{корп}}{S_{o2}}\right)^{\frac{3}{2}} = 0{,}25 \times \left(\frac{2{,}97}{0{,}294}\right)^{1{,}5} = 8{,}03 \quad (9)$$

Эффективность экранирования прямоугольного отверстия, размерами 0,05×0,6 м на основании корпуса под приемной ёмкостью: $S_{оз}$ = 3,14 × 0,6 × × 0,05 = 0,0942 м^2,

$$Э_3 = \frac{1}{4} \times \left(\frac{S_{корп}}{S_{оз}} \right)^{\frac{3}{2}} = 0,25 \times \left(\frac{2,97}{0,0942} \right)^{1,5} = 44,26 \quad (10)$$

Общая эффективность экранирования:

$$\frac{1}{Э} = \frac{1}{Э_1} + \frac{1}{Э_2} + \frac{1}{Э_3} = \frac{1}{58,18} + \frac{1}{8,03} + \frac{1}{44,26} = 0,0172 + + 0,1245 + 0,0226 = 0,164 \quad (11)$$

Общая эффективность экранирования низкая, поэтому во всех отверстиях для ограничения излучений предусмотрены дополнительные узлы. Смотровое окно затянуто мелкоячеистой неферромагнитной сеткой, диаметр проволоки не менее 2 мм и размер окна диаметром 50 мм. В загрузочной ёмкости расположен электроприводной неферромагнитный спиральный шнек с радиусом спирали r и шагом h. Диаметр неферромагнитного провода мал, по сравнению с диаметром спирали, поэтому этот шнек можно представить как анизотропный цилиндр, т. е. проводимость его бесконечна в направлении витков спирали и равна нулю в перпендикулярном направлении. Коэффициент замедления можно приблизительно определить по формуле:

$$k \approx 2 \times \pi \times \frac{d}{h} \quad (12)$$

Подбором радиуса и шага спирали можно ограничить мощность излучения через отверстие, предназначенное для загрузки сырья. Аналогичную функцию осуществляет и электроприводной неферромагнитный винтовой шнек, размещенный в отверстии, предназначенном для выгрузки продукта.

Важным параметром резонансной системы является собственная добротность, характеризующая отношение запасенной энергии к средней энергии потерь за период колебания, т. е. по этому показателю можно оценить термический коэффициент полезного действия в цилиндрическом резонаторе. Для обоснования добротности разрабатываемой конструкции резонатора было проведено компьютерное моделирование электродинамических процессов системы «генератор – резонатор». Учитывали, что резонатор представлен как цилиндр, на верхнем основании которого расположен еще цилиндр малой высоты. Размеры цилиндра приведены в таблице 1. Моделирование трехмерных структур электромагнитного поля в цилиндрическом резонаторе провели в программе CST Studio Suite (вычислительный модуль Time Domain Solver) [16, 17]. Это программа позволила моделировать сложные сверхвысокочастотные структуры в резонаторе и визуализировать распределение электрической и магнитной составляющей электромагнитного поля в нем.

Результаты исследования распределения электромагнитного поля в объеме цилиндрического резонатора (рис. 6) показывают, что в его центре напряженность электрического поля достигает 4–5 кВ/см. При такой напряженности электрического поля и определенной концентрации озона за счет коронирования бактерицидных ламп ожидается снижение бактериальной обсемененности продукта до ПДУ, 500 тыс. КОЕ/г.

Провели расчет его собственной добротности путем вычисления объема (V, м^3) и площади поверхности стенок алюминиевого резонатора (S, м^2), учитывая толщину скин-слоя (Δ = 1,72 мкм), при частоте 2450 МГц. Пользуясь методикой Ю. Н. Пчельникова, вычислили собственную добротность резонатора по формуле:

$$Q = k \times 2 \times \frac{V}{S} \times \Delta \quad (13)$$

где k – коэффициент, учитывающий снижение площади поверхности резонатора за счет перфорации (k = 0,55).

Площадь поверхности цилиндрического резонатора диаметром 73,44 см и высотой 50 см составляет

$$S = 2 \times \pi \times (R \times H \times R^2) = 2 \times 3,14 \times \times (0,3672 \times 0,5 + 0,3672) = 2 \text{ м}^2 \quad (14)$$

Объем цилиндрического резонатора:

$$V = \pi \times R^2 \times H = 2 \times 3,14 \times \times (0,3672 \times 0,5 + 0,3672^2) = 2 \text{ м}^2 \quad (15)$$

Собственная добротность резонатора:

$$Q = k \times 2 \times \frac{V}{S} \times \Delta = 0,65 \times 2 \times \frac{0,211}{2} \times \times 1,72 \times 10^{-6} = 79738 \quad (16)$$

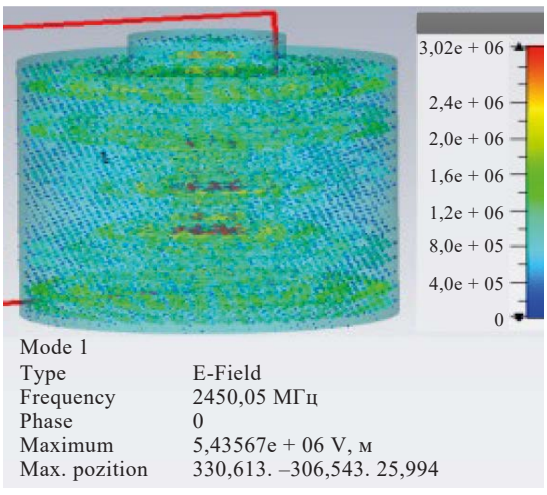


Рисунок 6. Распределение напряженности электрического поля в резонаторе

Figure 6. Electric field strength in the resonator

Таблица 1. Технические характеристики установки с воздействующими электрофизическими факторами в электроприводном цилиндрическом резонаторе

Table 1. Electrophysical installation with electrical cylindrical resonator: technical characteristics

Наименование	Параметры
Производительность, кг/ч	35–40
Общая мощность установки, кВт	10
Удельные энергетические затраты, кВт·ч/кг	0,25–0,28
Мощность СВЧ генераторов, кВт	4,4
Мощность электрогазоразрядных ламп, кВт	0,4
Мощность привода барабана-резонатора, кВт	5
Мощность спирального и винтового шнеков, Вт	0,2
Частота вращения барабана, об/мин	200–250
Диаметр и высота корпуса, см	90; 60
Диаметр и высота резонатора, см	73,44; 50

Расчеты показывают, что собственная добротность резонатора такой конструкции находится в пределах 80 000. Это значит, что термический коэффициент полезного действия может достигать 0,7–0,73. В цилиндрическом резонаторе собственная длина волны не зависит от его высоты вдоль оси 0z и совпадает со значением критической длины волны E_{01} в волноводе. Независимость собственной длины волны от высоты цилиндрического резонатора для моды E_{010} позволяет увеличить собственную добротность, повышая его высоту. Поэтому для волны E_{010} изменение собственной добротности достигали изменением его продольных размеров, оставляя резонансную частоту фиксированной величиной. Для полых резонаторов величина собственной добротности по данным А. В. Стрекалова имеет порядок 10^5.

С учетом электрофизических параметров жира – удельной теплоемкости (2300 Дж/кг·°С), плотности (930 кг/м^3) расплавленного жира, фактора диэлектрических потерь (18–20) при температуре 80–100 °С и ожидаемой напряженности электрического поля в коаксиальном резонаторе 4–5 кВ/см – вычислили продолжительность воздействия электромагнитного поля СВЧ на сырье.

Из выражения, характеризующего скорость диэлектрического нагрева жира ($\Delta T/\Delta\tau$, °С/с), можно по методике И. А. Рогова определить продолжительность воздействия электромагнитного поля СВЧ:

$$\frac{\Delta T}{\Delta \tau} = \frac{0,555 \times 10^{-12} \times f \times k \times E^2 \times \eta}{\rho \times c} \qquad (17)$$

где f – частота электромагнитного поля, МГц; k – фактор диэлектрических потерь жира; E – напряженность электрического поля, В/м; η – термический коэффициент полезного действия; ρ – плотность расплавленного жира, кг/м^3 (930 кг/м^3); c – теплоемкость расплавленного жира, Дж/кг·°С (2300 Дж/кг).

Продолжительность воздействия электромагнитного поля СВЧ:

$$\Delta \tau = \frac{90 \times 930 \times 2300}{0,55510^{-12} \times 2450 \times 10^6 \times 19 \times 5000^2 \times 0,73} = 408 \text{ с} = 6,8 \text{ мин} \qquad (18)$$

Расчеты показывают, что при напряженности электрического поля, равной 5 кВ/см, продолжительность воздействия электромагнитного поля СВЧ составляет 6,8 мин (0,113 ч), если термический коэффициент полезного действия 0,73. Такую продолжительность можно обеспечить при мощности генератора 3–4 Вт/г, т. е. в резонаторе с четырьмя генераторами, общей мощностью 4,4 кВт. Тогда в резонаторе может в стационарном режиме обрабатываться сырье массой 1,5 кг. В непрерывном режиме и при воздействии остальных электрофизических факторов в резонаторе одновременно будет обрабатываться 3–4 кг сырья производительностью 35,4 кг/ч (4/0,113 = 35,4 кг/ч). Мощность электромагнитного поля, рассеиваемая в единице объема сырья, определяется по формуле И. А. Рогова:

$$\text{P} = 0,555 \times 10^{-5} \times f \times k \times E^2 \times \eta = 0,555 \times 10^{-5} \times$$
$$\times 2450 \times 10^6 \times 19 \times 5^2 = 645881 \ \frac{\text{Вт}}{\text{м}^3} \qquad (19)$$

На основе результатов проведенных исследований и многолетних работ научной школы, где созданы десятки СВЧ-установок для термообработки разного сырья агропредприятий, составили технические характеристики установки (табл. 1) [20]. Частоту вращения электроприводного резонатора принимали равную частоту вращения рабочего органа – электроприводного барабана измельчителя-плавителя АВЖ-245, где при таких оборотах происходит тонкое измельчение сырья. Конструктивные размеры резонатора для возбуждения электромагнитного поля резонансной частоты согласовали с длиной волны. Для цилиндрического резонатора его диаметр должен быть кратным половине длины волны (длина волны 12,24 см). Рекомендуют, чтобы линейные размеры в 5–6 раз превышали длину волны генератора. Поэтому диаметр принят равным 6 кратной длине волны (12,24×6 = 73,44 см), а высота цилиндрического резонатора не связана с рабочей длиной волны и можно выбрать произвольно, порядка радиуса поперечного сечения. Приняли, равной

50 см, для эффективной балансировки резонатора при оборотах 200–250 об/мин.

Провели технико-экономическую оценку применения установки в фермерском хозяйстве. Оценку разработанной установки проводили в сравнении с устатановкой для вытопки жира Я-ФИБ (базовый вариант) стоимостью 400 тыс. руб. Расчеты ввелись для измельчения жиросырья и вытопки жиромассы производительностью 100–120 кг/ч при удельном расходе электроэнергии 0,1 кВт·ч/кг и расходе пара (при давлении 0,15–0,3 МПа) 180 кг/ч.

Расчеты показывают, что общая сумма эксплуатационных расходов составляет 150 000 руб./месяц. Себестоимость термообработки и обеззараживания сырья по базовому варианту составляет 6,21 руб./кг. Расчеты эксплуатационных расходов на термообработку отходов убоя животных по проектному варианту установки балансовой стоимостью 130 тыс. руб. показывают, что при производительности 35–40 кг/ч общая сумма расходов составляет 86 993 руб./месяц. Себестоимость термообработки с обеззараживанием сырья составит 4,35 руб./кг.

Выводы

Научную новизну представляют обоснованные конструктивно-технологические параметры установки с электроприводным цилиндрическим резонатором, предназначенной для комплексного воздействия электрофизических факторов на некондиционное мясное сырье в непрерывном режиме с соблюдением электромагнитной безопасности.

Практическую значимость работы представляют 3D модель установки с источниками электрофизических факторов, расположенными внутри электроприводного цилиндрического резонатора; результаты исследования динамики диэлектрического нагрева камер желудки крупного рогатого скота; результаты моделирования электродинамических процессов с использованием CAD/CAE-системы CST Microwave Studio; технические характеристики установки с рациональными параметрами.

Результаты исследования динамики нагрева тонко измельченного сырья показывают, что можно провести термообработку с вытопкой жира в установке с цилиндрическим электроприводным резонатором в непрерывном режиме. При мощности СВЧ-генератора 4,4 кВт и мощности электрогазоразрядных ламп 400 Вт производительность установки составляет 35–40 кг/ч, удельные энергетические затраты равны 0,25–0,28 кВт·ч/кг.

Результаты исследования электродинамических процессов системы и распределения электромагнитного поля в объеме цилиндрического резонатора показывают, что в его центре напряженность электрического поля достигает 4–5 кВ/см, а Е-энергия − 30–40 Дж/м^3. Высокая собственная добротность, подтвержденная расчетным значением (79738), указывает, что термический коэффициент полезного действия может достигнуть 0,73.

При напряженности электрического поля, равной 5 кВ/см, продолжительность воздействия электромагнитного поля СВЧ составляет 0,113 ч, если термический коэффициент полезного действия равен 0,73. Такую продолжительность можно обеспечить при мощности генератора 3–4 Вт/г, т. е. в резонаторе с четырьмя генераторами общей мощностью 4,4 кВт. Тогда в резонаторе может в стационарном режиме обрабатываться сырье массой 1,5 кг. В непрерывном режиме и при воздействии остальных электрофизических факторов в резонаторе одновременно будет обрабатываться 3–4 кг сырья производительностью 35,4 кг/ч.

При напряженности электрического поля 9,79 кВ/см у поверхности коронирующих игл начинается коронный разряд и выделение озона, соответствующей концентрации, что дополнительно с бактерицидным потоком от электрогазоразрядных ламп усиливает эффект обеззараживания продукта.

Радиогерметичность установки обеспечивается электроприводным неферромагнитным спиральным шнеком при загрузке сырья и винтовым шнеком при выгрузке продукта, выполняющие одновременно функцию замедляющей системы, ограничивая излучения.

Таким образом, проектирование радиогерметичной установки с источниками электрофизических факторов в объемном резонаторе с высокой собственной добротностью и с магнетронами воздушного охлаждения, обеспечивающий высокую напряженность электрического поля для термообработки вторичного мясного сырья в условиях фермерских хозяйств в непрерывном режиме, является перспективным; можно переходить к изготовлению образца установки.

Критерии авторства

Результаты исследования принадлежат автору.

Конфликт интересов

Автор заявляет об отсутствии конфликта интересов.

Contribution

The results of the study belong to the author.

Conflict of interest

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

References/Список литературы

1. Gorbunova NA, Petrunina IP. Waste management problems in manufacturing products by enterprises of the industry. Meat Industry. 2023;(9):32–36. (In Russ.). [Горбунова Н. А., Петрунина И. П. Проблемы использования отходов при производстве продукции предприятиями мясной отрасли // Мясная индустрия. 2023. № 9. С. 32–36.]. https://www.elibrary.ru/WAGVLY

2. Fayvishevsky ML. Improving the processing of certain meat by-products. Meat Technology. 2022;233(5):44–47. (In Russ.). [Файвишевский М. Л. Совершенствование переработки некоторых видов побочного мясного сырья // Мясные технологии. 2022. Т. 233. № 5. С. 44–47.]. https://www.elibrary.ru/UQVXFX

3. Fayvishevsky ML. Ideas for improving the processing and use of animal raw materials. Meat Technology. 2023; 247(7):40–41. (In Russ.). [Файвишевский М. Л. Некоторые предложения по совершенствованию переработки и использованию животного сырья // Мясные технологии. 2023. Т. 247. № 7. С. 40–41.]. https://www.elibrary.ru/ZPZPGT

4. Uglov VA, Shelepov VG, Borodai EV, Slepchuk VA. Prospects for Using Secondary Resources of Meat Processing Industries Based on Patent Research. Innovations and Food Safety. 2020;(3):39–46. (In Russ.). https://doi.org/10.31677/2311-0651-2020-29-3-39-46; https://www.elibrary.ru/PORRLH

5. Ivanov AS, Ivanov VA, Sidorenko DS, Oganezov NI, Rogozhin KV. Breakthrough Electric Wave Technologies and Equipment for Waste Disposal. Management of Municipal Waste as an Important Factor of Sustainable Urban Development. 2018;(1):103–110. (In Russ.). [Прорывные электро-волновые технологии и оборудование для утилизации и обезвреживания отходов / А. С. Иванов [и др.] // Управление муниципальными отходами как важный фактор устойчивого развития мегаполиса. 2018. № 1. С. 103–110.]. https://www.elibrary.ru/SQZUAG

6. Krapivnitskaya TK, Bulanova SA, Denisenko AN, Bogdashov AA, Vikharev AA, Sobolev DI, *et al.* Microwave system for processing solid organic raw materials. Microwave and Telecommunication Technology. 2021;(3):380–381. (In Russ.). [Система СВЧ переработки твердого органического сырья / Т. К. Крапивницкая [и др.] // СВЧ-техника и телекоммуникационные технологии. 2021. № 3. С. 380–381.]. https://www.elibrary.ru/WWUUEA

7. Tukhvatullin MI, Arkhangelsky YuS, Akhmetshin AT. Features of Hybrid Microwaveelectrical Installations. Agricultural technology and energy supply. 2021;(4):30–36. (In Russ.). [Тухватуллин М. И., Архангельский Ю. С., Ахметшин А. Т. Особенности гибритных СВЧ электротехнологических установок // Агротехника и энергообеспечение. 2021. № 4. С. 30–35.]. https://www.elibrary.ru/NACSLZ

8. Aipov RS, Gabitov II, Tuhvatullin MI, Linenko AV, Tuktarov MF, Akhmetshin AT. Process Unit for Drying Sawn Timber Rotating in the Ultra High Frequency Field with a Discrete Arrangement of Magnetrons. Bulgarian Journal of Agricultural Science. 2019;25(Suppl. 2):3–11.

9. Fomin DG, Dudarev NV, Darovskikh SN, Klygach DS, Vakhitov MG. Specific Features of Volume-Modular Technology Application in the Design of Microwave Electronic Devices. Ural Radio Engineering Journal. 2021;5(2):91–103. (In Russ.). https://doi.org/10.15826/urej.2021.5.2.001; https://www.elibrary.ru/SVKGKQ

10. Novikova GV, Zhdankin GV, Belova MV, Mikhailova OV. Installations for Complex Influence of Electrophysical Factors on Raw Materials. News of the National Academy of Sciences of the Republic of Kazakhstan (Series of Geology and Technical Sciences). 2019;4(436):54–61. https://doi.org/10.32014/2019.2518-170X.97

11. Belova MV, Zhdankin GV, Novikova GV. Creation of Microwave Installation of Container Type for Heat Treatment of Blood and Fat-Containing Raw Materials. Vestnik of the Kazan State Agrarian University. 2016;11(4):74–78. (In Russ.). https://doi.org/10.12737/article_592fc7d6407e48.58575824; https://www.elibrary.ru/YPLNDD

12. Mikhailova O, Gdankin G, Prosviryakova M, Novikova G, Storchevoy V. Microwave Heating of Slaughterhouse Confiscations to Increase the Feed Value. IOP Conference Series: Earth and Environmental Science. 2021;857:012002. https://doi.org/10.1088/1755-1315/857/1/012002

13. Novikova GV, Prosviryakova MV, Mikhailova OV, Tikhonov AA, Fedorov ME, Romanov PN. Development of an Installation with a Microwave Power Supply for Grinding and Melting of Fat Raw Materials in a Non-Standard Resonator. Bulletin NGIEI. 2023;140(1):34−43. (In Russ.). [Разработка установки с СВЧ-энергоподводом для измельчения и плавления жиросырья в нестандартном резонаторе / Г. В. Новикова [и др.] // Вестник НГИЭИ. 2023. Т. 140. № 1. С. 34–43.]. https://www.elibrary.ru/MOMWOF

14. Tikhonov AA, Kazakov AV, Belova MV, Mikhailova OV, Novikova GV. Icrowave Unit with a Quasi-Stationary Resonator for Melting of Decontaminated Fat from Milled Fat-Containing Material in Continuous Mode. Russia patent RU 2726565C1. 2020. [СВЧ установка с квазистационарным резонатором для вытопки обеззараженного жира из измельчённого жиросодержащего сырья в непрерывном режиме: пат. 2726565C1 Рос. Федерация. № 2019122928 / Тихонов А. А. [и др.]; заявл. 16.07.2019; опубл. 14.07.2020. 9 с. Бюл. № 20.].

15. Prosviryakova MV, Tikhonov AA, Ziganshin BG, Mikhailova OV, Novikova GV. Intensification of the Process of Extracting Fat from Fat-Containing Raw Materials by Dielectric Heating. Bulletin of the Kazan State Agrarian University. 2022;17(3):96–105. (In Russ.). [Интенсификация процесса извлечения жира из жиросодержащего сырья диэлектрическим нагревом / М. В. Просвирякова [и др.] // Вестник Казанского государственного аграрного университета. 2022. Т. 17. № 3. С. 96–105.]. https://www.elibrary.ru/VMESJJ

16. Alekseychik LV, Kurushin AA. Simulation of Microwave Dielectric Resonator by Plane Electromagnetic Wave. Journal of Radio Electronics. 2020;(11):6. (In Russ.). [Алексейчик Л. В., Курушин А. А. Моделирование возбуждения диэлектрического резонатора полем плоской электромагнитной волны // Журнал радиоэлектроники. 2020. № 11. С. 6.]. https://www.elibrary.ru/XYFOXB

17. Titov EV, Soshnikov AA, Vasiliev VYu, Solovskoy AS. Computer Simulation of Superimposed Electromagnetic Waves from Electromagnetic Field Sources in a Wide Frequency Range. Bulletin of Altai State Agricultural University. 2022; (3):102−108. (In Russ.). [Компьютерное моделирование наложенных электромагнитных волн от источников электромагнитного поля в широком диапазоне частот / Е. В. Титов [и др.] // Вестник Алтайского государственного аграрного университета. 2022. № 3. С. 102–108.]. https://www.elibrary.ru/WJXMFX

18. Sivyakov BK, Grigoryan SV. Mathematical Modeling of Multi-Wave Microwave Installations for Drying Products. Journal of Electrotechnics. 2019;(4):5−11. (In Russ.). [Сивяков Б. К., Григорьян С. В. Математическое моделирование многоволновой СВЧ установки для сушки продуктов // Вопросы электротехнологии. 2019. № 4. С. 5−11.]. https://www.elibrary.ru/ZTXFUW

19. Ryabchenko VYu, Paslyon VV. Computer Simulation of Objects with CST Microwave Studio. Modern Issues in Radioelectronics and Telecommunications. 2018;(1):139. (In Russ.). [Рябченко В. Ю., Паслён В. В. Математическое моделирование многоволновой СВЧ установки для сушки продуктов // Современные проблемы радиоэлектроники и телекоммуникаций. 2018. № 1. С. 139.]. https://www.elibrary.ru/QIKITH

20. Voronov EV. Research and Justification of Parameters for a Microwave Setup Implementing a Resource-Saving Technology for Heat Treatment of Meat Waste. Bulletin NGIEI. 2023;(8):33–43. (In Russ.). [Воронов Е. В. Исследование и обоснование параметров СВЧ установки, реализующей ресурсосберегающую технологию термообработки мясных отходов // Вестник НГИЭИ. 2023. № 8. С. 33−43.]. https://www.elibrary.ru/POTHMG

ISSN 2074-9414 (Print)
ISSN 2313-1748 (Online)

https://doi.org/10.21603/2074-9414-2024-2-2514
https://elibrary.ru/AGWHLV

Оригинальная статья
https://fptt.ru

Гистологические исследования мясной продукции по Sous vide на основе обзора известных подходов к формированию качества

А. А. Кокшаров*, Л. А. Маюрникова, А. Д. Пластун, Н. И. Давыденко, Т. В. Крапива

Кемеровский государственный университет, Кемерово, Россия

Поступила в редакцию: 12.10.2023
Принята после рецензирования: 11.12.2023
Принята к публикации: 09.01.2024

**А. А. Кокшаров: koksharov.arkadiy@mail.ru, https://orcid.org/0000-0002-2782-5833*
Л. А. Маюрникова: https://orcid.org/0000-0003-4592-8382
А. Д. Пластун: https://orcid.org/0000-0002-1474-6829
Н. И. Давыденко: https://orcid.org/0000-0003-2479-8750
Т. В. Крапива: https://orcid.org/0000-0002-9441-8744

© А. А. Кокшаров, Л. А. Маюрникова, А. Д. Пластун, Н. И. Давыденко, Т. В. Крапива, 2024

Аннотация.
Технология Sous vide известна с середины 1970-х гг., а в России с 2000-х. Для формирования теоретико-методологической базы, регламентирующей качество продукции, актуально проведение разноаспектных исследований. Целью работы являлось изучение влияния заданных режимов технологии Sous vide на формирование качества продукции из мяса говядины путем проведения гистологического и органолептического анализа.
Объекты и режимы исследования выбрали на основе анализа научной информации, представленной в базах данных Scopus, Web of Science и eLIBRARY.RU. Изучили процесс получения готовой продукции по Sous vide из крестцовой части туши мяса говядины при заданных режимах: 57 и 64 °С (24 ч варки), 80 °С (12 ч варки). Качество продукции определяли гистологическим и органолептическим методами.
Гистологические исследования показали, что процесс варки при 100 °С и режимы Sous vide при 57, 64 и 80 °С приводят к увеличению размера межклеточного пространства и растворению соединительной ткани. Чем выше температура, тем более выражена усадка и деформация мышечных волокон. В условиях варки по Sous vide наибольшую степень разрушения волокнистых структур получили образцы, приготовленные при 80 °С в течение 12 ч. С повышением степени разрушения мышечных волокон обнаружили увеличение выхода ядер в межклеточное пространство, а также проявление грануляции перимизия и сарколеммы с образованием зернистых масс, которые заполняют пространство между пучками мышечных волокон. Говядина, приготовленная по технологии Sous vide, имеет высокие показатели консистенции по сочности и нежности.
Обобщение результатов исследований и их анализ выявило противоречие между возрастанием степени разрушения волокон при увеличении температуры и формированием показателя консистенция (сочность и нежность). Мы считаем необходимым продолжение исследований в этом направлении и приглашаем профильных специалистов к дискуссии.

Ключевые слова. Технология Sous vide, мясо говядины, качество, гистология, микроструктура, органолептические свойства

Для цитирования: Гистологические исследования мясной продукции по Sous vide на основе обзора известных подходов к формированию качества / А. А. Кокшаров [и др.] // Техника и технология пищевых производств. 2024. Т. 54. № 2. С. 382–397. https://doi.org/10.21603/2074-9414-2024-2-2514

https://doi.org/10.21603/2074-9414-2024-2-2514
https://elibrary.ru/AGWHLV

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

Histological Studies of *Sous Vide* Beef Based on Best Practices in Meat Quality Formation

Arkadiy A. Koksharov*, Larisa A. Mayurnikova, Anna D. Plastun, Nataliia I. Davydenko, Tatyana V. Krapiva

Kemerovo State University, Kemerovo, Russia

Received: 12.10.2023
Revised: 11.12.2023
Accepted: 09.01.2024

**Arkadiy A. Koksharov: koksharov.arkadiy@mail.ru, https://orcid.org/0000-0002-2782-5833*
Larisa A. Mayurnikova: https://orcid.org/0000-0003-4592-8382
Anna D. Plastun: https://orcid.org/0000-0002-1474-6829
Nataliia I. Davydenko: https://orcid.org/0000-0003-2479-8750
Tatyana V. Krapiva: https://orcid.org/0000-0002-9441-8744

© A.A. Koksharov, L.A. Mayurnikova, A.D. Plastun, N.I. Davydenko, T.V. Krapiva, 2024

Abstract.
Sous vide technology came to Russia in the early 2000s. Its quality standards require a multidimensional comprehensive study to develop theoretical and methodological foundations. The research featured the effect of various *Sous vide* modes on beef quality based on histological analysis and sensory assessment.
The review of best practices in this sphere included publications registered in Scopus, Web of Science, and eLIBRARY.RU. Beef from sacral part underwent *Sous vide* processing at two modes, i.e., 57 and 64°C for 24 h and 80°C for 12 h. The samples obtained were subjected to histological analysis and sensory assessment.
The histology showed that the cooking process at 100°C and the *Sous vide* modes at 57, 64, and 80°C increased the intercellular space and dissolved the connective tissue. Higher temperature modes led to more pronounced shrinking and deformation of muscle fibers. Under the *Sous vide* conditions, fibrous structures demonstrated the most severe destruction after 12 h at 80°C. As the destruction of muscle fibers increased, more nuclei entered intercellular space. Moreover, perimysium and sarcolemma demonstrated signs of granulation between muscle fiber bundles. The *Sous vide* samples received the best score for juiciness and tenderness.
The research revealed a certain contradiction between the growing degree of fibrous destruction caused by thermal treatment and the improving consistency index for juiciness and tenderness. The authors consider it necessary to investigate the matter further and invite specialists to submit their ideas.

Keywords. *Sous vide* technology, beef meat, quality, review, histology, modes, microstructure, organoleptic properties

For citation: Koksharov AA, Mayurnikova LA, Plastun AD, Davydenko NI, Krapiva TV. Histological Studies of *Sous Vide* Beef Based on Best Practices in Meat Quality Formation. Food Processing: Techniques and Technology. 2024;54(2):382–397. (In Russ.). https://doi.org/10.21603/2074-9414-2024-2-2514

Введение

В питании россиян говядина занимает третье место по количеству потребления среди других мясных продуктов. На начало 2022 г. производство говядины в России (в убойном весе) в хозяйствах всех категорий составило 983,8 тыс. т, что меньше на 3,7 % в сравнении с предыдущим годом. Сокращение объема предложения спровоцировало рост цен [1]. Вместе с этим ухудшилась покупательская способность населения, поэтому потребители предпочитают искать более доступную по цене продукцию, не отказываясь от привычных товаров, но покупая их в меньшем количестве [2]. По мнению экспертов федерального центра «Агроэкспорт», к факторам, которые сохраняют и стимулируют спрос на говядину, относится развитие туризма и ресторанного сектора.

Согласно ГОСТ 34120-2017 говядину классифицируют в зависимости от возраста и пола, а категория мяса устанавливается в зависимости от массы, формы туши (классы) и толщины подкожного жира (подклассы). Особое место занимает говядина высокого качества, к которой относят «мраморную». Она имеет повышенное содержание внутримышечного жира, который менее плотный, чем денатурированный и коагулированный белок. «Мраморное» распределение жировой ткани снижает прочность мяса и повышает его сочность [3]. Производство говядины высокого качества относится к развивающемуся сегменту рынка

и имеет высокую стоимость, в отличие от мяса более низкой категории, которая пока пользуется большим спросом у российских потребителей [4, 5]. В таком мясе, в отличие от «мраморного», жировая ткань расположена в подкожном слое и носит очаговый характер. Мясо имеет более плотную мышечную структуру и, в зависимости от отруба, содержит разное количество соединительной ткани и консистенцию (текстуру) мяса [6]. Такое мясо требует длительного приготовления при невысоких температурах. Это обусловлено тем, что формирование консистенции готовой продукции зависит от соединительной ткани, содержащейся в мясе низкого качества, поэтому чем длительнее приготовление, тем этот показатель имеет более высокую оценку [7].

При принятии решения о покупке продуктов люди руководствуются органолептическими показателями, такими как внешний вид, запах, вкус и консистенция [8, 9]. Запах и вкус имеют определяющую роль при выборе продукта, но для мясной продукции консистенция имеет особую, а иногда ключевую роль [10]. Консистенция мясного продукта – это свойство, которое характеризует его стойкость при пережевывании и/или деформировании. Этот показатель является одним из сложных в органолептической оценке и включает множество характеристик: нежность, упругость, сочность, мягкость и др. [11–13]. На восприятие консистенции влияет ряд факторов, в частности уровень знаний экспертов и потребителей о текстуре как свойстве пищевого продукта.

Важную роль играют национальные и культурные особенности питания и оценки качества продукции. Например, в Японии при оценке качества продуктов специалистами применяется в 6 раз больше характеристик по сравнению с аналогичными процедурами в Америке [14]. В России имеет место неоднозначность процессов оценки качества однородных продуктов. Также отмечается неоднозначность в терминологии государственных стандартов: в ГОСТ ISO 5492-2014 «консистенция – это механическая характеристика, обнаруживаемая путем стимулирования тактильных (пережёвывание) или визуальных рецепторов», а в ГОСТ 31985-2013 консистенция рассматривается только с точки зрения оценки механическими и тактильными рецепторами. В доступной литературе не обнаружено спецификаций описания характеристик консистенции продукции, полученных на основе визуальных, тактильных и механических рецепторов экспертов [15, 16].

К факторам, которые формируют консистенцию мяса в процессе приготовления, можно отнести содержание воды, жира и соединительной ткани, активность ферментов, состояние мышечных волокон, способ созревания мяса, условия хранения, способ приготовления и др. [3, 16, 17]. Процесс формирования качества мяса должен начинаться на этапе выбора вида убойных животных для выращивания и откорма для последующего применения в пищевых отраслях. В России для производства говядины используют скот молочного и комбинированного направления продуктивности, что составляет 96 %. Доля специализированных мясных пород, выращиваемых целенаправленно для получения высококачественного мяса, составляет 4 % [18]. Для этих целей разводят мясной скот девяти пород, из которых 59,4 % это калмыцкая, 25,2 % герефордская, 10 % казахская белоголовая, от 0,6 до 1,4 % остальные [19, 20]. В Западной Сибири наибольшее распространение имеет герефордская порода [21]. У разных пород «мраморность» формируется по-разному и достигает требуемого результата в разное время: у бычков калмыцкой породы к 17-месячному возрасту, у казахской белоголовой к 18-месячному возрасту, у герефордской к 19–20 месяцу. У симментальской породы мраморность отсутствует [22, 23]. В мраморном мясе специализированных пород содержание внутримышечного жира изменяется в пределах от 3,5 до 38 %, а в мясе, лишенном мраморности, внутримышечный жир составляет около 1 % [24]. Однако если мясо специализированных пород характеризуется «мраморностью» как высококачественное, то остальные виды мяса относятся к постному, содержащему не более 1 % жира и занимающему важную роль в питании населения [25, 26].

На формирование качества в целом и консистенции в частности влияет каждый из этапов процесса: от получения мясной продукции до ее реализации (рис. 1). Многие исследователи отмечают необходимость расширения показателей качества на всех этапах, в частности на уровне изменения микроструктуры сырья и готовой продукции.

В мясе после убоя животного ферментативные изменения проходят в направлении распада. Это автолитические изменения, от глубины и характера которых зависит качество и пищевая ценность мяса, определяемая при разных способах обработки: охлаждении, хранении, замораживании, размораживании, измельчении и т. д. Выделяют три состояния мяса в период его автолитических изменений: парное, максимального окоченения и созревшее. К парному относится мясо непосредственно после убоя животного и разделки туши (2–4 ч для говядины). Оно характеризуется расслаблением тканей, сравнительно небольшой механической прочностью, высокой водосвязывающей способностью и мягкой консистенцией. Вкус и запах такого мяса выражены слабо. Через 3 часа после убоя начинается развитие посмертного окоченения, при котором мясо теряет эластичность, становится жестким и теряет влагосвязывающую способность. Такое мясо плохо поддается механической обработке и сохраняет жесткость после варки. Процесс созревания на 5–7 сутки после убоя при 0–4 °С способствует снижению жесткости мяса. На 10–14 сутки органолептические показатели достигают оптимальных значений. Уменьшение жесткости мяса связано с процессом изменения белков, при котором образуются продукты распада коллагена под воздействием гидролитических ферментов, высвобождающихся из

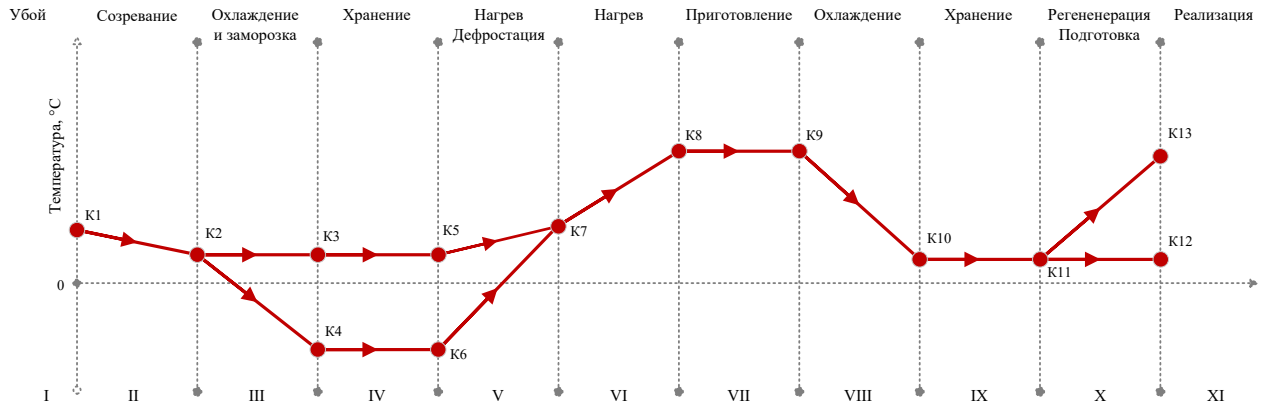


Рисунок 1. Диаграмма процессов преобразования мяса от убоя животного до реализации мясной продукции

Figure 1. Meat processing from slaughter to shelf

лизосом. Образующиеся кислоты в процессе созревания мяса приводят к разрыхлению коллагеновых пучков, ослаблению межмолекулярных поперечных связей и набуханию коллагена. Таким образом, в процессе созревания мяса происходит улучшение консистенции, но для разных отрубов этот процесс неодинаков [27, 28].

Созревшее мясное сырье реализуется в охлажденном или замороженном виде. Сохранение качества мяса после его созревания – одна из важнейших задач предприятий пищевой отрасли. Сохранение качества зависит от способа замораживания, наличия или отсутствия упаковки, режимов хранения. В процессе низкотемпературного хранения могут протекать процессы, которые снижают качество мясных полуфабрикатов. К ним относятся отепление, усушка, частичное оттаивание и формирование крупных кристаллов льда, разрушающих клеточную стенку. Под воздействием низких температур происходит разрушение микроструктур мышечного волокна говядины, которое проявляется в виде потерь мясного сока и растворенных веществ в условиях подготовки мяса к механической и/или кулинарной обработке. Это можно наблюдать при проведении гистологических исследований, которые выявляют нарушение целостности клеток и уменьшение их объема. Снижение влаги в поверхностном слое при хранении приводит к денатурации белков и снижению водосвязывающей способности, что ухудшает консистенцию сырого мяса и готовой мясной продукции [29–31].

Представляют интерес исследования по влиянию последовательности применяемых операций созревание – хранение при низких температурах на качество готовой мясной продукции. D. Setyabrata и др. изучили влияние последовательности процессов созревания и замораживания на качественные характеристики говяжьей корейки при различных способах заморозки: быстрая – криогенная заморозка при –75 °С, медленная – шоковая заморозка при –20 °С [32]. Авторы выявили, что на результирующие качественные характеристики замороженных/размороженных стейков из говядины влияют последовательность вызревание – замораживание и способ замораживания. При комбинации быстрой заморозки и последовательности замораживание – оттаивание – вызревание снижаются потери продукта при оттаивании, по сравнению с медленной заморозкой, в то время как потери от быстрой и медленной заморозки последовательности вызревание – замораживание – оттаивание не отличались друг от друга. Потери при варке были выше у образцов мяса, созревшего без замораживания (контроль), чем у мяса, подвергнутого последовательности замораживание – оттаивание – вызревание. Результаты гистологических исследований визуально подтверждают увеличение межклеточного пространства у мяса медленной заморозки по сравнению с быстрой. Поэтому последняя способствует лучшему сохранению качества сырья.

Недостатком технологии Sous vide является то, что на стадии вакуумирования возникает деформация изделий, которая усиливается при термическом воздействии и приводит к ухудшению внешнего вида продукции. В снижении влияния этого фактора положительную роль играет подмораживание, которое способствует обеспечению более высоких органолептических показателей продукта (сохранение формы изделия и увеличение сочности), снижению потерь на 15–20 % и повышению биологической ценности. Оптимальным режимом предварительного подмораживания полуфабрикатов является шоковое замораживание при –30 °С [33].

Изучению процесса кристаллообразования при замораживании мяса посвящены научные исследования С. И. Хвыля [34]. Было установлено, что кристаллы льда, образующиеся при замораживании, располагаются в мясе в зоне перимизия, между мышечными волокнами в эндомизии и внутри самих мышечных волокон. В процессе длительного хранения мяса происходит увеличение размеров кристаллов льда, что может привести либо к деформации мышечных волокон

без разрушения клеточной мембраны, либо к разрыву клеточной мембраны с последующим выходом внутриклеточного содержимого в межклеточное пространство после размораживания мяса и снижения его качества.

Повторное замораживание мяса приводит к еще большему увеличению кристаллообразования и более выраженному деструктивному изменению мембранных и филаментных структур мышечного волокна. Продукция, приготовленная из повторно замороженного мяса, может обладать низким уровнем качества.

Мясная продукция, независимо от территории проживания, социального статуса и возраста человека, является обязательной составляющей его рациона с учетом Норм физиологической потребности. Это является основанием для проведения научных исследований специалистами разных областей знаний в зависимости от поставленных целей и задач. Мы провели анализ специализированной научно-технической литературы за период 2015–2019 гг., посвященной исследованиям в области формирования качества мясной продукции. Обобщили и систематизировали материал по показателям качества говядины, которые наиболее часто определяются исследователями при разных видах обработки: замораживание и тепловая обработка (тушение и Sous vide) (табл. 1).

Во всех исследованиях контролем (табл. 1) служили показатели мясной продукции, не подвергнутой замораживанию. В экспериментальных исследованиях все образцы мяса были подвергнуты однократному замораживанию. Для проведения гистологических исследований использовали мясо говядины, температурные режимы замораживания которого составили от –18 до –30 °С. Кроме того, представлял интерес температурный режим при –75 °С, который относится к технологии криогенной заморозки и является новым направлением исследований.

С одной стороны, анализ данных таблицы 1 показывает глубину опубликованных результатов исследований и возможность их применения в практической деятельности, а с другой – целесообразность расширения спектра исследований при других малоизученных параметрах технологий пищевых производств. Ниже представлен обзор результатов исследований технологий и их параметров, направленных на выявление факторов, которые формируют потребительские свойства готовой мясной продукции.

Если блок исследования, приведенный в первой части статьи, был посвящен вопросам формирования качества мясного сырья, в зависимости от режимов хранения, то второй блок посвящен вопросам формирования

Таблица 1. Перечень показателей мяса говядины, подвергнутого замораживанию с последующей тепловой обработкой, полученных исследователями и опубликованных в научной литературе

Table 1. Quality indicators for beef subjected to freezing and heat treatment, by different authors

Показатели	Температура замораживания, °С							Вид тепловой обработки	
	б/з*	–75	–30	–25	–24	–20	–18	Sous vide	Тушение
Внутренняя температура сырья, °С	3–8	–20	–2	–25	–2	–20	–2	+	
Массовая доля жира, %			+		+		+	+	+
Массовая доля влаги, %			+		+		+	+	+
Массовая доля белка, %			+		+		+	+	+
Кислотность, pH	+	+		+					
Анализ протеолиза	+	+				+			
Энергетическая ценность, ккал			+		+		+	+	+
Коэффициент различия аминокислотного скора, %			+		+		+	+	+
Биологическая ценность, %			+		+		+	+	+
Коэффициент утилитарности (U), %			+		+		+	+	+
Содержание витаминов, %			+		+		+	+	+
Порозность мышечной ткани, %	+								
Потери при тепловой обработке, %	+	+	+		+	+	+	+	+
Потери при оттаивании, %	+	+				+			
Капельные потери влаги, %	+	+				+			
Размер кристаллов льда, мкм			+		+		+		
Количество повторения заморозки	1	1	1	1	1	1	1		
Начальное характеристическое время замерзания (T_c), мин		+	+		+	+	+		
Сила сдвига, Н	+	+				+			
Санитарно-гигиенические			+		+		+	+	+

*б/з – без замораживания.

*б/з – without freezing.

качества готовой мясной продукции. В качестве технологии производства мясной продукции рассматривали относительно новую технологию Sous vide в установленных граничных условиях (температура и время).

Наряду с показателями качества, регламентируемыми нормативными документами и общепринятыми методами исследования при оценке качества готовой мясной продукции, ряд исследователей использует гистологический анализ, применяемый при идентификации и получении более объективных показателей.

Анализ литературы показал, что технологии приготовления при температурах (120–130 °С) остаются более предпочтительными для мяса, которое имеет высокую долю соединительной ткани. Технологический процесс для 1–2 кг полуфабриката может длиться 5–7 ч, в течение которых мясо приобретает нежную структуру, мягкость и сочность. Однако такой продукт не пригоден для длительного хранения согласно требованиям существующих нормативных документов. Альтернативным способом длительного приготовления мяса является технология Sous vide, которая характеризуется приготовлением продукта в вакуумной среде в диапазоне температур от 50 до 95 °С. Получаемые мясные изделия имеют высокие органолептические показатели и в вакуумной среде (упаковка) могут храниться более 4 недель. Продукт аналогичен отварным мясным полуфабрикатам, но обладает более высокими показателями по консистенции (сочность и мягкость) [35–37].

В сравнении с приготовлением мясных изделий традиционной варкой и на гриле Sous vide приводит к меньшим потерям [38]. Однако исследователи отмечают, что при 77 °С, независимо от используемого метода, условий приготовления и характеристики мяса (содержании жира, тип мышц), потери схожи и составляют примерно 30 % веса образцов мяса. Это связано с тем, что при температуре 77 °С структура перимизия нарушается, несмотря на используемый метод приготовления, а соединительная ткань между адипоцитами при варке начинает изменяться.

Ранние исследования по изменению цвета образцов мяса показывают, что при более длительном приготовлении происходит переход от красных тонов (денатурация DeoxyMb и OxyMb белков) к коричневато-красным с зеленоватым оттенкам (гемовые группы MetMb и SulfMb белков) [39]. Стейки из говядины, приготовленные методом Sous vide, имеют более интенсивный красноватый цвет, сине-желтые хроматические значения также выше по сравнению с остальными видами обработки. Эти изменения более заметны при низких температурах 60–80 °С

Отмечается положительное влияние технологии Sous vide на консистенцию мяса жесткой структуры и низкого качества. Проведенные исследования на мясе тайской говядины (*Bos indicus*) показали, что данная технология изменяет, но не разрушает митохондрии полностью, вызывает усадку миофибриллярной массы, а при 60 и 70 °С – волнистость некоторых мышечных волокон [40]. Увеличение потерь при варке незначительно при температуре 60–70 °С в сравнении с 70–80 °С. Микроструктурные изменения более изменчивы для образцов, приготовленных при 60 и 70 °С, чем для образцов при 80 °С, которые показали большую площадь поперечного сечения миофибриллярной массы. Ученые обнаружили гиперконтрактивные волокна при всех сочетаниях температуры и времени, которые были связаны с соседними волнистыми волокнами и характерной структурной эволюцией в митохондриях.

Результаты исследований по изучению консистенции (плотность, жевательность, упругость, начальное напряжение и твердость) и микроструктуры мышечных волокон мяса крупного рогатого скота при варке показывают, что они изменяются независимо друг от друга [41]. Скорость изменений увеличивается с повышением температуры мяса до различных максимумов в диапазоне 70–100 °С, а затем уменьшается. Потери при варке увеличиваются с повышением внутренней температуры образцов. Наибольшие приросты потерь при варке наблюдаются между 50–70 °С в результате термической денатурации миофибриллярных белков и усадки коллагена. Уменьшение диаметра волокна наблюдалось в образцах, нагретых до 60 и 121 °С. Выявлена зависимость между диаметром волокон и упругостью мяса при нагревании в диапазоне 60–121 °С. Упругость мяса связана со степенью набухания волокон, что отражается на диаметре волокон. Изменения длины саркомера и потери при кулинарной обработке обратно пропорциональны.

Представляют интерес работы, которые описывают результаты комбинирования различных технологий совместно с Sous vide. F. M. Chian и др. исследовали влияние воздействия ударно-волновой обработки в сочетании с Sous vide (12 ч варки при 60 °С) на структурные характеристики образцов мяса из говяжьей грудинки [42]. Ударная волна сама по себе и с приготовлением Sous vide изменяет структуру мяса: снижается термостабильность внутримышечной соединительной ткани, а молекулярная структура миофибрилл не изменяет профиль электрофореза в белковом геле говядины. Технология ударно-волновой обработки нарушает ультраструктуру мышц за счет образования волнистых саркомеров и дезорганизованных Z-дисков, а последующая варка Sous vide дополнительно модифицирует молекулярную, микро- и ультраструктуру мышц, обработанных ударно-волновой обработкой, что смягчает мясо. Из этого следует, что сочетание ударно-волновой обработки и варки Sous vide может быть эффективным для повышения ценности более жестких мясных отрубов за счет увеличения их степени нежности.

Проводились исследования при сочетании умеренного давления с технологией Sous vide на примере мяса тайской говядины [43]. Сочетание Sous vide при давлении 200–300 кПа и температуре 60 °С способствовало формированию более интенсивного цвета, нежности и сочности образцов мяса, уменьшению потерь при варке

в сравнении с образцами, приготовленными при атмосферном давлении 101 кПа. Различия становятся более значимыми только после 3 ч варки (примерно на 10–11 %). Кроме того, создание условий умеренного давления (200–300 кПа) в условиях производства является более доступным в сравнении с высоким давлением (300–600 МПа). Скороварка обеспечивает давление 180–200 кПа (абсолютное). Установлено, что соединительная ткань говядины, приготовленной в вакууме, неоднородная и с более рыхлыми мышечными волокнами, чем у отварной или сырой говядины. Электрофоретические профили показали, что денатурация тяжелой цепи миозина влияет на физические свойства мяса.

Имеются результаты исследований, которые описывают изменение качества мясной продукции под влиянием технологии Sous vide в сочетании с ингредиентами, подавляющими развитие микрофлоры продукта [44]. Срок годности говядины, обработанной имбирным порошком (зингибаином), с последующим приготовлением по Sous vide увеличивается до 10 недель при температуре 4 ± 2 °C. Не установлено влияния внесения имбирного порошка на силу сдвига, текстуру и микроструктуру образцов.

Несмотря на исследования по оценке влияния температуры и времени приготовления на срок годности, органолептические и физико-химические свойства мяса, приготовленного по технологии Sous vide, остаются недостаточно изученными. На отечественном рынке это затрудняет совершенствование процесса повышения качества такой продукции и внедрение технологии в массовое использование. Анализ имеющегося опыта и получение новых результатов будет способствовать развитию технологии Sous vide в пищевых отраслях.

Провели поиск и анализ зарубежных и отечественных исследований технологии Sous vide, которые описывают результаты микроскопического анализа по определению влияния температуры на структуру волокон мяса в вакуумной среде. По результатам анализа более 200 источников зарубежной научной литературы, находящейся в свободном доступе, было определено 9 работ, которые включают гистологические исследования. Схожих публикаций российских исследователей обнаружено не было, кроме тех, что представлены выше. На обобщении и систематизации имеющейся научно-технической информации по изучаемой теме (1980–2023 гг.) составлен сводный перечень показателей, определяемых исследователями при изучении качества мясных полуфабрикатов, приготовленных по технологии Sous vide (табл. 2).

Анализ таблицы 2 показал, что в большей степени изучены показатели качества сырья и готовой продукции Sous vide из мяса говядины при режимах 60, 70 и 80 °C. Из указанного перечня показателей исследователи проявили интерес к потерям при тепловой обработке и реологическим показателям (упругость, растяжимость, жевательность и др.), из группы морфометрических показателей – к диаметру волокон, длине саркомера, площади поперечного сечения мышечных волокон и площади экстрамиофибриллярных масс.

Выявили наличие ограниченного количества исследований, которые рассматривают качественные и структурные изменения готовой мясной продукции из говядины, в т. ч. продукции Sous vide, подвергнутой различным режимам замораживания и размораживания. Поэтому проведение дальнейших исследований в данном направлении считаем целесообразным. Определили диапазоны температуры технологии Sous vide, которые являются неизученными или недостаточно изученными: 50–59, 61–69, 71–79, 81 °C и более. Не обнаружили исследований по микроскопическим исследованиям мяса по технологии Sous vide и их влиянию на формирование органолептических свойств готовой продукции.

Вышесказанное обуславливает актуальность продолжения и расширения направлений исследований процессов технологии Sous vide и их влияния на формирование качества готовой продукции. Важность этого вопроса подтверждается отсутствием национальных нормативных документов, которые регламентируют качество и безопасность мясной продукции по этой технологии. Производители продукции Sous vide самостоятельно формируют технологическую документацию, подтверждающую ее безопасность, но необходимость разработки единого подхода и единой нормативной документации (государственных стандартов) остается актуальной.

Мясная продукция, приготовленная по Sous vide в диапазоне температур от 50–70 °C, по российскому законодательству определяется как не доведенная до кулинарной готовности и представляющая потенциальную опасность для потребителя. Согласно ГОСТ Р 50647-94 кулинарная готовность характеризуется совокупностью физико-химических, структурно-механических и органолептических показателей. В условиях производства критерием готовности является температура внутри продукта [45]. Готовность изделий из мяса определяется выделением бесцветного сока в месте прокола и серым цветом на разрезе продукта, а также температурой в толще продукта. Для натуральных рубленых изделий температура должна быть не ниже 85 °C; она определяет его готовность, обеспечивает микробиологическую безопасность и сроки годности. На предприятиях пищевой промышленности, которые имеют аттестованную химическую лабораторию, кулинарную готовность отварной мясной продукции подтверждают определением остаточной активности фосфатазы. Международная организация FDA (Food and Drug Administration) определила минимальную температуру для доведения до готовности мяса говядины – 63 °C в толще продукта.

Широкий диапазон температур и времени приготовления продукции по технологии Sous vide, описанный в литературе, создает сложности и вызывает

Таблица 2. Обзор результатов исследований, опубликованных в научной литературе, показателей мясного сырья и готовой продукции из мяса говядины по технологии Sous vide при разных температурах

Table 2. Quality indicators of raw beef and finished products after different *Sous vide* modes, by different authors

Показатели \ Температура, °С		Мясное сырье без тепловой обработки	50	55	60	65	70	77	80	90	100	121
Время приготовления	0/до достижения внутренней температуры	+	+	+	+		+	+	+	+	+	+
	15 мин				+		+		+			
	30 мин				+		+		+			
	45 мин				+		+		+			
	60 мин				+	+	+		+			
	90 мин				+							
	2 ч				+		+		+			
	2,5 ч				+							
	3 ч				+							
	3,5 ч				+							
	4 ч				+		+		+			
	6 ч				+		+		+			
	8 ч					+						
	12 ч				+		+		+			
	18 ч				+		+		+			
	24 ч				+		+		+			
	30 ч				+		+		+			
	36 ч				+		+		+			
Физико-химические	Массовая доля жира, %	+										
	Массовая доля влаги, %	+				+						
	Массовая доля белка, %	+										
	Кислотность (pH)	+				+						
	Окисление липидов (TBARS), мг МДА/кг					+						
	Цвет	+			+	+	+		+			
	% вторичной белковой структуры	+			+							
Морфометрические	Диаметр волокна, мкм (n = 40)	+	+		+		+		+	+	+	+
	Длина саркомера, мкм (n = 20)	+	+		+		+		+	+	+	+
	Площадь поперечного сечения мышечных волокон (CSA×10^5), мкм^2	+		+	+		+	+	+			
	Периметр, мкм	+			+							
	Диаметр Фере, мкм	+			+							
	Площадь внеклеточных пространств (ECSA×10^4), мкм^2	+			+							
	Изменение площади экстрамиофибриллярных масс (EMA), %	+		+	+		+	+	+			
	Количество волокон в 0,25 мм^2	+		+				+				
	% мышечных волокон и соединительной ткани	+			+							
	% расстояния между мышечными волокнами	+			+							
Дополнительные	Потери при тепловой обработке, %		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	Упругость, см	+	+		+	+	+		+	+	+	+
	Растяжимость, Н/мм^2	+	+		+	+	+		+	+	+	+
	Сила сдвига, Н	+			+	+	+		+			
	Жевательность, Н	+	+		+	+	+		+	+	+	+
	Модуль упругости, кПа	+	+		+		+		+	+	+	+
	Начальное напряжение, кПа	+	+		+		+		+	+	+	+
	Усилие резания/твердость, Н	+	+		+	+	+		+	+	+	+
	Липкость, Н/см^2					+						
	Клейкость, Н·с					+						
	Органолептический анализ				+							
	Санитарно-гигиенические					+						

необходимость проведения исследований при подборе режимов и параметров для конкретных продуктов. Теория и механизмы формирования и управления качеством продукции по технологии Sous vide до конца не сформированы и требуют дополнения и уточнения. В этой связи провели исследования по изучению влияния технологии Sous vide на качество мясной продукции в диапазоне температур 57 и 64 °С в сравнении с 80 и 100 °С.

Целью работы являлось изучение влияния заданных режимов технологии Sous vide на формирование качества продукции из мяса говядины путем проведения гистологического и органолептического анализа.

Объекты и методы исследования

Объектом исследования являлось мясо тазобедренной части говядины, хранившееся в течение 48 ч после убоя при температуре от 0 до 4 °С. Выбор данного вида сырья обусловлен тем, что большая часть мяса говядины, потребляемой населением, является низкосортным, т. к. оно выработано из пород, предназначенных для производства молока. Разные части туши отличаются между собой степенью жесткости – бедренная часть говядины является достаточно жесткой, поэтому представляет интерес для исследования.

Для определения изменений микроструктуры мяса говядины исследованию подвергали следующие образцы: мясо сырое, отварное мясо при 100 °С в течение 2 ч (в соответствии с рекомендациями сборников рецептур), отварное мясо по технологии Sous vide при 57 и 64 °С в течение 24 ч, 80 °С – 12 ч. Охлажденные после приготовления образцы до температуры 4–6 °С подвергали криофиксации, после чего их нарезали на автоматическом микротом-криостате МСМ-3500 на кусочки толщиной 10 мкм, окрашивали гематоксилин-эозином и помещали под покровные стекла для проведения гистологии.

Оценку гистологических срезов образцов мяса говядины проводили на основе анализа фотографий с общим увеличением от ×40 до ×100. Фотографии получили при помощи биологического микроскопа марки «Микромед» с видеоокуляром ToupCam 5,1 Мпк в проходящем свете по методу светового поля. Определили состояние мышечных волокон и их изменения в процессе тепловой обработки при разных температурах. Линейные размеры мышечных волокон и других структур мяса говядины установили при помощи программы ToupTek ToupView (версия x64, 4.7.14011.20190228).

Органолептический анализ проводили путем ранжирования с участием 30 экспертов. Предварительно приготовленные и охлажденные образцы повторно нагревали на водяной бане при 60 °С в течение 10 мин и подавали экспертам для оценки в одноразовой посуде. Для каждого члена экспертной комиссии образцам были присвоены случайные трехзначные числа, а порядок образцов был рандомизирован. Каждый рейтинговый тест был разделен на 4 показателя: цвет, запах, консистенция на нежность и сочность. Ранжирование цвета было от самого темного (= 1) до самого яркого (= 4), от наименее насыщенного (= 1) до насыщенного запаха готовой отварной говядины (= 4), нежность от самой жесткой (= 1) до самой нежной (= 4), сочность от самой сухой (= 1) до самой сочной (= 4).

Результаты и их обсуждение

Объектом для проведения гистологического анализа по изменению микроструктуры мяса говядины по технологии Sous vide были образцы, относящиеся к поперечнополосатой мышечной ткани, которая является основной в мясе убойных животных. У крупного рогатого скота данная ткань составляет 49–68 % массы всей туши. В основе строения поперечнополосатой мышечной ткани лежат поперечнополосатые мышечные волокна в виде тонких и длинных цилиндров с тупыми или слегка заостренными концами. Длина волокон колеблется от нескольких миллиметров до 15 см, диаметр – от 10 до 150 мкм. Объединенные прослойками рыхлой соединительной ткани (эндомизием) пучки таких волокон составляют отдельные мышцы [46, 47]. В каждом волокне различают сарколемму (наружную оболочку), жидкую саркоплазму, ядра, миофибриллы (сократительные органеллы с регулярно повторяющейся организацией) и др.

Готовые гистологические срезы мяса говядины, полученные при заданных режимах обработки, подвергли исследованию структурных изменений мышечных волокон, видимых при проведении светового микроскопирования со степенью увеличения объективов ×40, ×100 и с окуляром на ×10. Качественные изменения в микроструктурах образцов представлены на микрофотографиях фиксированных структур в поперечном (рис. 2) и продольном (рис. 3) срезах, окрашенных гематоксилином и эозином.

Анализ показал, что в сыром мясе отсутствуют нарушения целостности волокон, они плотно прилегают друг к другу, а на поперечном срезе видна их плотность – четко очерчены границы волокон. Ядра расположены преимущественно на периферии мышечных волокон под сарколеммой, единичные ядра, отделившиеся от волокон в процессе нарезки срезов, наблюдаются в межклеточном пространстве. Отчетливо видна рыхлая соединительная ткань между волокнами и их пучками (эндомизий и перимизий).

Процесс варки приводит к увеличению размера межклеточного пространства и изменениям структуры внутримышечной соединительной ткани: к сморщиванию и растворению. Увеличение площади межклеточных пространств наблюдается у образцов после варки при 100 °С (2 ч). Также следует отметить усадку волокон при варке традиционным способом и их деформацию – это видно на продольном и поперечном срезах соответственно. Соединительную ткань было труднее различить в приготовленных Sous vide образцах при 57 °С (24 ч). В остальных образцах перимизий можно было иденти-

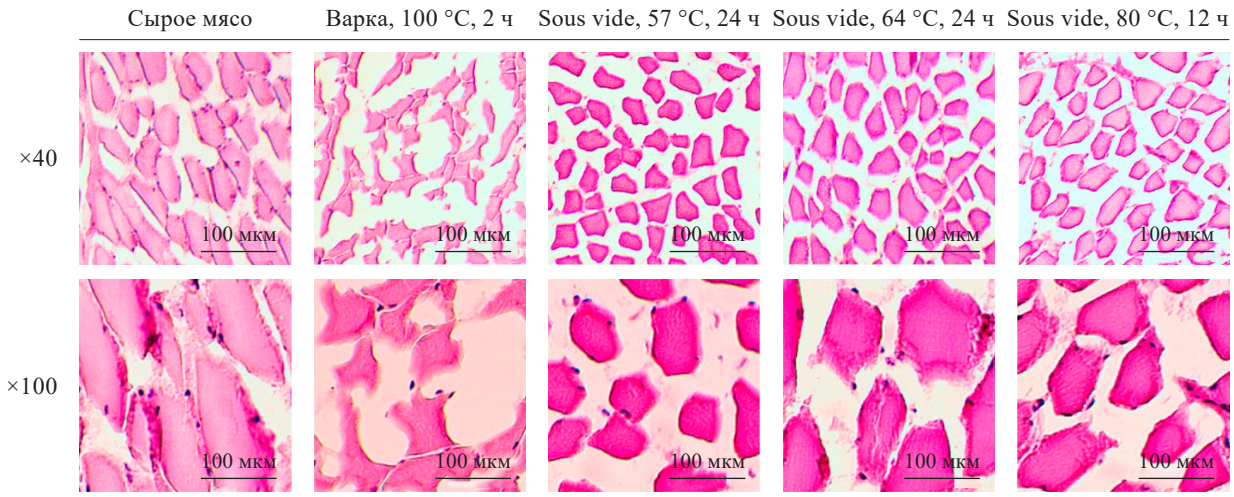


Рисунок 2. Фотографии световой микроскопии поперечных срезов мышечных волокон мяса говядины при исследуемых режимах обработки с общим увеличением изображений ×40 и ×100; окраска гематоксилином и эозином

Figure 2. Cross sections of beef muscle fibers under different processing modes: hematoxylin and eosin staining, light microscopy at ×40 and ×100

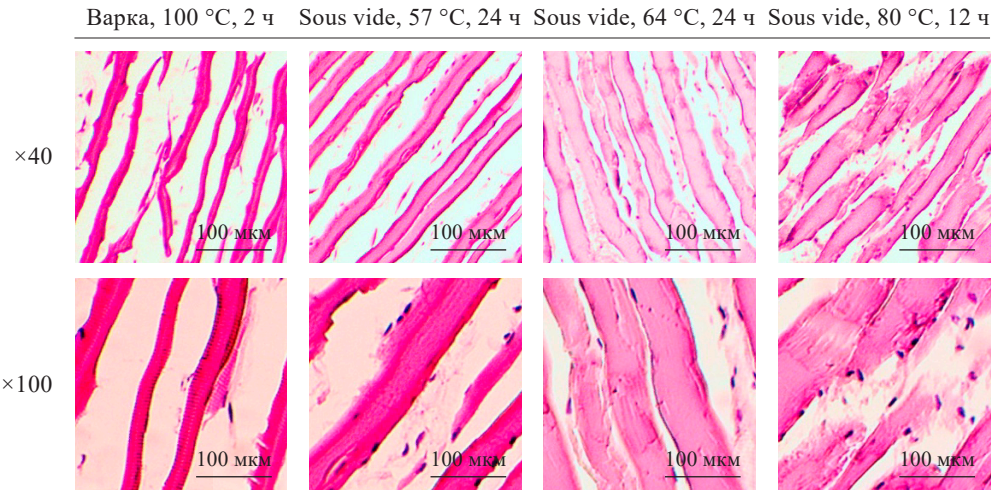


Рисунок 3. Фотографии световой микроскопии продольных срезов мышечных волокон мяса говядины при исследуемых режимах обработки с общим увеличением изображений ×40 и ×100; окраска гематоксилином и эозином

Figure 3. Longitudinal sections of beef muscle fibers under different processing modes: hematoxylin and eosin staining, light microscopy at ×40 and ×100

фицировать, несмотря на его увеличивающуюся растворимость с температурой и временем приготовления. На поперечном срезе образцов, сваренных Sous vide при 57 °С, видно сжатие волокон, как и при 100 °С – их диаметр визуально меньше образцов, подвергнутых варке под вакуумом при 64 и 80 °С. На продольном срезе у обоих образцов видно, что волокна плотные, но при 57 °С они относительно ровные, а при 100 °С наблюдается деформация и разорванность.

Из-за разрушения волокон увеличилось высвобождение ядер в межклеточное пространство, что видно на продольных срезах сваренных образцов. Наибольший выход ядер в межклеточное пространство наблюдается у образцов, сваренных при 100 °С. Наибольшая степень разрушения волокнистых структур отмечена при варке по технологии Sous vide при 80 °С в течение 12 ч: волокнам труднее сохранять свою целостность, поэтому после нарезки срезов на микрофотографиях наблюдаются поперечные разрывы длиной оси волокна. Подобная степень разрушения и разорванность наблюдается у образцов, сваренных Sous vide при 64 °С в течение 24 ч. У обоих образцов отметили

проявления грануляции перимизия и сарколеммы из-за денатурирования внутримышечной соединительной ткани и миофибрилл. После варки Sous vide при 80 °С образования зернистых масс сильнее заполнили пространство между пучками волокна, чем при 64 °С.

Данные, представленные в таблице 3, в количественном выражении подтверждают описанные выше качественные изменения в микроструктурах образцов. Наивысшие значения расстояния между мышечными волокнами обнаружили у образцов, сваренных при 100 °С: 75,14 ± 36,18 мкм в поперечном, 130,19 ± 93,82 мкм в продольном срезах, наименьшие у образцов, сваренных Sous vide при 57 и 64 °С: 50,61 ± 19,46 и 63,73 ± 21,75 мкм в поперечном, 84,17 ± 33,69 и 76,50 ± 27,55 мкм в продольном срезах соответственно. Средний диаметр волокна в сырой говядине составил 127,93 ± 25,61 мкм, а в вареном (в среднем) – 106,14 ± 8,24 мкм. Как диаметр, так и площадь поперечного сечения мышечных волокон уменьшались при варке, что подтверждает сжимание волокон, видимых на снимках. В исследовании структурных изменений тайской говядины авторы отметили данное явление и предположили, что это связано с уменьшением миофибриллярной массы [44]. Наибольшая поперечная усадка волокна наблюдается в значениях показателя «Толщина волокон» при двухчасовой варке при 100 °С – 52,44 ± 13,53 мкм, что в среднем меньше в 1,5 раза в сравнении с образцами Sous vide. Наряду с усадкой и деформацией волокон, при варке традиционным способом отмечается наибольшее скопление волокон на площади в 0,25 мм^2 (в среднем 99 ± 16 мкм). Это может быть связано с дефрагментацией мышечных волокон и неравномерным плотным прилеганием пучков друг к другу.

Органолептический анализ образцов, приготовленных по технологии Sous vide, проводили в сравнении с контрольным образцом мяса говядины (варка при 100 °С, 2 ч). Установлено, что цвет образцов мяса говядины по Sous vide был более насыщен, вкус выражен, консистенция более нежная и сочная по сравнению с контролем. Органолептические профили полученных образцов отварного мяса представлены в таблице 4.

Сравнительный анализ показал, что образцы мяса говядины, приготовленные по технологии Sous vide, имеют преимущества по органолептическим показателям в сравнении с контрольным образцом, приготовленным по традиционной технологии. Оценка образцов мяса говядины по технологии Sous vide по 5-балльной шкале представлена в таблице 5. В основу проведения органолептической оценки продукции Sous vide положены требования ГОСТ 9959-2015.

Образцы, приготовленные при 80 °С (12 ч), были более нежными, чем образцы при 57 и 64 °С (24 ч). У образцов Sous vide консистенция по сочности и нежности уменьшается в сторону меньших температур. Это согласуется с результатами гистологических исследований (рис. 2 и 3). Образцы, приготовленные по Sous vide, имеют более высокие баллы по показателю сочности (3,29–3,74) в сравнении с отварной говядиной при 100 °С (1,96). Образцы Sous vide были оценены по вкусу ниже (2,63–3,14), чем отварные по традиционному способу (3,76). Так как технология Sous vide широко не применяется для приготовления мясной продукции на предприятиях питания и отсутствует в ассортименте на рынке, то можно предположить, что для экспертов более привычен вкус отварной говядины, поэтому они оценили эти образцы выше. Образцы, приготовленные по технологии Sous vide, по таким показателям, как внешний вид и консистенция (нежность и сочность), имеют лучшие показатели, в отличие от образцов, приготовленных традиционным способом при 100 °С.

Таблица 3. Морфометрические показатели мяса сырой говядины и говядины, прошедшей тепловую обработку по традиционной технологии и Sous vide

Table 3. Morphology indicators of raw beef, beef after conventional thermal treatment, and beef processed by *Sous vide*

Показатели / Образцы	Общ. ув.	Срез	Без тепловой обработки	Варка при 100 °С, 2 ч	Sous vide при 57 °С, 24 ч	Sous vide при 64 °С, 24 ч	Sous vide при 80 °С, 12 ч
Толщина волокна, мкм	100	||	–	52,44 ± 13,53	75,50 ± 13,19	79,88 ± 17,73	79,63 ± 16,80
Диаметр волокна, мкм	100	=	127,93 ± 25,61	99,36 ± 15,03	99,27 ± 14,94	115,93 ± 24,37	109,99 ± 19,70
Площадь поперечного сечения волокна, ($S_{п.с.}\times10^3$), мкм^2	100	=	13,35 ± 5,02	7,92 ± 2,37	7,91 ± 2,33	11,01 ± 4,52	9,79 ± 3,55
Расстояние между мышечными волокнами, мкм	100	||	–	130,19 ± 93,82	84,17 ± 33,69	76,50 ± 27,55	102,27 ± 55,50
		=	74,65 ± 29,70	75,14 ± 36,18	50,61 ± 19,46	63,73 ± 21,75	67,34 ± 45,02
Количество волокон в 0,25 мм^2	40	=	48 ± 7	99 ± 16	75 ± 70	55 ± 10	71 ± 70

Примечания: || – продольный срез; = – поперечный срез.

Note: || – longitudinal section; = – cross section.

Таблица 4. Органолептические профили мяса говядины при разных режимах и параметрах тепловой обработки

Table 4. Sensory profiles of beef under different modes and parameters of thermal treatment

Образцы	Органолептические показатели
Варка основным способом: 100 °С, 2 ч	Внешний вид: форма стейка, сохраненная при нарезке, без деформации Цвет: от темно-коричневого с красным оттенком до серо-коричневого с желтым оттенком Запах: советующий вареной говядине, умеренный Вкус: отварного мяса говядины, пресный и выраженный Консистенция: поверхность мяса ощущается сухой и жесткой, внутри – мясо плотное, немного сухое
Sous vide: 80 °С, 12 ч	Внешний вид: форма стейка, сохраненная при нарезке, приплюснутая; поверхность слегка влажная Цвет: коричневый с красным оттенком Запах: соответствующий вареной говядине, насыщенный Вкус: вареной говядины, приятный Консистенция: снаружи и внутри мясо очень мягкое и сочное, текстура ощущается однородной
Sous vide: 64 °С, 24 ч	Внешний вид: форма стейка, сохраненная при нарезке, приплюснутая; поверхность слегка влажная с небольшими по бокам фрагментами коагулированных белков Цвет: от коричневого до коричнево-красного Консистенция: снаружи и внутри мясо также мягкое и сочное, но более плотное, ощущается волокнистость Запах: советующий вареной говядине, насыщенный Вкус: вареной говядины, приятный
Sous vide: 57 °С, 24 ч	Внешний вид: форма стейка, сохраненная при нарезке, приплюснутая; поверхность слегка влажная с фрагментами коагулированных белков Цвет: от светло-коричневого до коричнево-красного Консистенция: снаружи и внутри мясо достаточно мягкое и сочное, текстура более плотная и упругая, но при этом нежная Запах: советующий вареной говядине, насыщенный Вкус: вареной говядины, приятный

Таблица 5. Балльная оценка органолептических показателей образцов мяса говядины

Table 5. Sensory assessment of beef samples, score

Показатели	Образцы			
	Sous vide: 57 °С, 24 ч	Sous vide: 64 °С, 24 ч	Sous vide: 80 °С, 12 ч	Варка основным способом: 100 °С, 2 ч
Цвет	3,71 ± 0,96	4,01 ± 0,84	2,85 ± 0,89	1,91 ± 1,06
Вкус	2,63 ± 1,11	2,88 ± 1,03	3,14 ± 1,11	3,76 ± 1,23
Нежность	3,63 ± 0,95	3,89 ± 0,95	4,36 ± 0,95	1,48 ± 0,68
Сочность	3,29 ± 0,85	3,74 ± 0,84	3,68 ± 1,09	1,96 ± 1,00

Выводы

Обзор данных научной литературы показал перспективность применения технологии Sous vide в производстве пищевой продукции, что определяет интерес исследователей к изучению разных аспектов формирования и сохранения ее качества. Обобщили результаты исследований влияния факторов (температура, время, особенности исходного сырья, степень созревания мяса, условия приготовления готовой продукции и ее хранения и т. д.) на процесс формирования потребительских свойств мясной продукции.

Однако объекты и экспериментальные исследования носят локальный характер, что свидетельствует о целесообразности расширения граничных условий, имеющихся в литературе. Выявили малую изученность показателей качества продукции из мяса говядины, приготовленной по технологии Sous vide, методом гистологического анализа. Отличительными режимами технологии от известных при организации исследований являлись 57 и 64 °С (24 ч), 80 °С (12 ч) применительно к объекту – крестцовой части туши говядины. Собственные исследования позволили установить влияние заданных режимов на структурные изменения мяса говядины на микроуровне и на показатели сочности и мягкости путем сравнительной характеристики результатов микроскопирования сырья и готовой продукции.

Результаты собственных гистологических исследований показали, что процесс варки при 100 °С при рассматриваемых режимах Sous vide (57, 64 и 80 °С)

приводит к увеличению размера межклеточного пространства и растворению соединительной ткани. Показано, что чем выше температура, тем значительнее наблюдаемые изменения. У мяса, приготовленного при 100 °С (традиционная варка), более выражена усадка и деформация мышечных волокон, что в количественном выражении в 1,5 раза выше, чем у образцов Sous vide. В условиях варки по технологии Sous vide наибольшую степень разрушения волокнистых структур наблюдали в образцах, приготовленных при 80 °С в течение 12 ч. С повышением степени разрушения мышечных волокон обнаружили увеличение выхода ядер в межклеточное пространство. Проявления грануляции перимизия и сарколеммы у образцов Sous vide отметили при 64 и 80 °С. Для последних образование зернистых масс, заполняющих пространство между пучками мышечных волокон, более интенсивное. Результаты исследований образцов мяса Sous vide методом гистологии выявили зависимость степени разрушения волокон от температуры в порядке убывания: при 80 °С → при 64 °С → при 57 °С.

Процесс формирования сочности мясных полуфабрикатов отражается в результатах органолептической оценки. Результаты исследований показали, что наиболее высокие показатели консистенции по сочности имели образцы Sous vide при 64 °С в течение 24 ч, по нежности – при 80 °С в течение 12 ч, наименьшие (по обоим показателям) – при 57 °С в течение 24 ч. Образцы, полученные при 80 °С в течение 12 ч, по показателю консистенции «сочность» характеризовались оценкой средняя/выше средней.

Обобщение результатов исследований и их анализ выявило противоречие между возрастанием степени разрушения волокон при увеличении температуры и формированием показателя консистенция (сочность и нежность). Образцы Sous vide при 64 °С и 24 ч имели самую высокую сочность, но обладали меньшей степенью разрушения мышечного волокна, чем образцы при 80 °С (12 ч), которые были менее сочными, несмотря на наличие многочисленных разрушений мышечных волокон. Мы считаем необходимым продолжение исследований в этом направлении и приглашаем профильных специалистов к дискуссии.

Критерии авторства

А. А. Кокшаров и Л. А. Маюрникова – разработка концепции и дизайна исследования, анализ и интерпретация литературных данных, написание статьи. А. Д. Пластун – сбор и анализ литературных данных, выполнение лабораторных исследований. Н. И. Давыденко и Т. В. Крапива – сбор и анализ литературных данных, обработка результатов, редактирование и подготовка статьи к публикации.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Contribution

A.A. Koksharov and L.A. Mayurnikova developed the research concept, designed the methodology, analyzed the data, reviewed scientific literature, and wrote the manuscript. A.D. Plastun collected and analyzed literary data, as well as performed the laboratory research. N.I. Davydenko and T.V. Krapiva collected and analyzed literary data, processed the results obtained, and proofread the manuscript.

Conflict of interest

The authors declare no conflict of interests regarding the publication of this article

References/Список литературы

1. Meat market: statistics updated for the third quarter of 2022 [Internet]. [cited 2023 Sep 12]. Available from: https://ab-centre.ru/news/rynok-myasa-statistika-s-obnovleniem-na-iii-kvartal-2022-goda

2. Consumers have reconsidered their diet: how customer preferences changed last year [Internet] [cited 2023 Sep 12]. Available from: https://www.agroinvestor.ru/markets/article/39533-potrebiteli-peresmotreli-ratsion-kak-v-proshlom-godu-menyalis-predpochteniya-pokupateley

3. Gurinovich GV, Khrenov VA, Patrakova IS. Comparative evaluation of beef quality depending on the aging conditions. Polzunovskiy Vestnik. 2022;(1):73–78. (In Russ.). https://doi.org/10.25712/ASTU.2072-8921.2022.01.010; https://www.elibrary.ru/JJBYWC

4. Lisitsyn AB, Kozyrev IV, Mittel'shteyn TM. Production and evaluation of high-quality beef. Vsyo o Myase. 2015;(3):22–25. (In Russ.). [Лисицын А. Б., Козырев И. В., Миттельштейн Т. М. Особенности производства и оценки высококачественной говядины // Все о мясе. 2015. № 3. С. 22–25.]. https://www.elibrary.ru/TYWJUZ

5. Gorlov IF, Slozhenkina MI, Lisitsyn AB, Bolaev BK, Natyrov AK, Mosolova DA. Modern approaches to increasing the efficiency of genetic potential of Kalmyk cattle. Volgograd: Sfera LLC; 2019. 260 p. (In Russ.). [Современные подходы к повышению эффективности использования генетического потенциала калмыцкого скота / И. Ф. Горлов [и др.]. Волгоград: ООО «Сфера», 2019. 260 с.]. https://www.elibrary.ru/UYEHVK

6. Gurinovich GV, Khrenov VA, Patrakova IS, Patshina MV. Studying an effect of thermal treatment methods on physico-chemical properties of beef depending on aging technology. Food Systems. 2022;5(4):376–382. (In Russ.). https://doi.org/10.21323/2618-9771-2022-5-4-376-382; https://www.elibrary.ru/OMZMET

7. Cheremenina NA, Zhiryakov ED, Mikhailov MS. Comparative characteristics of raw and thermally treated meat of different animal species and poultry. Proceedings of the international scientific and practical conference on Integration of science and practice for agro-industrial development; 2018; Tyumen. Tyumen: Northern Trans-Ural State Agricultural University; 2018. p. 166–171. (In Russ.). [Черемениа Н. А., Жиряков Е. Д., Михайлова М. С. Сравнительная характеристика сырого и термически обработанного мяса разных видов животных и птицы // Сборник статей международной научно-практической конференции «Интеграция науки и практики для развития агропромышленного комплекса». Тюмень, 2018. С. 166–171.]. https://www.elibrary.ru/VPOPLP

8. Robbins K, Jensen J, Ryan KJ, Homco-Ryan C, McKeith FK, Brewer MS. Consumer attitudes towards beef and acceptability of enhanced beef. Meat Science. 2003;(65):721–729. https://doi.org/10.1016/S0309-1740(02)00274-7

9. Saha A, Perumalla AVS, Lee Y, Meullenet JF, Owens CM. Tenderness, moistness, and flavor of pre- and postrigor marinated broiler breast fillets evaluated by consumer sensory panel. Poultry Science. 2009;88(6):1250–1256. https://doi.org/10.3382/ps.2008-00236

10. Nishinari K, Peyron M-A, Yang N, Gao Z, Zhang K, Fang Y, *et al.* The role of texture in the palatability and food oral processing. Food Hydrocolloids. 2024;147:109095. https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2023.109095

11. Drey LN, O'Quinn TG. Tenderness, juiciness and flavor contribute to the overall consumer beef eating experience. Kansas Agricultural Experiment Station Research Reports. 2017;3(1):27. https://doi.org/10.4148/2378-5977.1361

12. O'Sullivan MG, Cruz-Romero MC, Kerry JP. Sensory and physiochemical comparison of traditional bone-in dry-aged beef loin with bone-less dry ageing and ageing using a moisture permeable bag. Food and Nutrition Sciences. 2018; 9(9):1078–1098. https://doi.org/10.4236/fns.2018.99079

13. Felderhoff C, Lyford C, Malaga J, Polkinghorne R, Brooks C, Garmyn A, *et al.* Beef quality preferences: Factors driving consumer satisfaction. Foods. 2020;9(3):289. https://doi.org/10.3390/foods9030289

14. Garmyn A. Consumer preferences and acceptance of meat products. Foods. 2020;9(6):708. https://doi.org/10.3390/foods9060708

15. Sokolov AYu, Shishkina DI, Pchelkina VA. Development of meat products with wheat fiber for food industry. Herald of Ryazan State Agrotechnological University named after P.A. Kostychev. 2018;(4):172–178. (In Russ.). [Соколов А. Ю., Шишкина Д. И., Пчелкина В. А. Разработка мясных полуфабрикатов с пшеничными волокнами для индустрии питания // Вестник Рязанского государственного агротехнологического университета им. П. А. Костычева. 2018. № 4. С. 172–178.]. https://www.elibrary.ru/LCIETW

16. Lazarev AA, Kuznetsova TG. National and foreign approaches in descriptionand assessment of consistency and texture of meat products. Vsyo o Myase. 2019;(5):19–23. (In Russ.). [Лазарев А. А., Кузнецова Т. Г. Отечественные и зарубежные подходы при описании и оценке консистенции и текстуры мясной продукции // Все о мясе. 2019. № 5. С. 19–23.]. https://www.elibrary.ru/RSKRBK

17. Lisitsyn AB, Sus′ IV, Mittel′shteyn TM, Legoshin GP, Mogilenets ON, Afanas′eva ES. Principles of classification and quality assessment in the new unified national standard on Cattle for slaughter; beef and veal in carcasses, half-carcasses and quarters. Vsyo o Myase. 2010;(3):39–43. (In Russ.). [Принципы классификации и оценки качества в новом едином национальном стандарте «Крупный рогатый скот для убоя, говядина и телятина в тушах, полутушах и четвертинах» / А. Б. Лисицын [и др.] // Все о мясе. 2010. № 3. С. 39–43.]. https://www.elibrary.ru/MRYEPR

18. Gurinovich GV, Patrakova IS, Khrenov VA, Patshina MV, Shevchenko AI. Effect of dry aging on beef muscle proteins. Food Processing: Techniques and Technology. 2023;53(3):621–629. (In Russ.). https://doi.org/10.21603/2074-9414-2023-3-2462

19. Breeding beef cows: features and prospects [Internet]. [cited 2023 Sep 20]. Available from: https://сельхозпортал.рф/articles/razvedenie-korov-na-myaso

20. Amerkhanov KhA, Fedorenko VF, Strekozov NI. Breeds of pedigree farm animals and poultry: distribution in the Russian Federation. Catalog. Moscow: FGNU "Rosinformagrotekh"; 2006. 60 p. (In Russ.). [Амерханов Х. А., Федоренко В. Ф., Стрекозов Н. И. Породы племенных сельскохозяйственных животных и птицы, распространение в российской федерации. Каталог. М.: ФГНУ «Росинформагротех», 2006. 60 с.]. https://www.elibrary.ru/WFONSH

21. Inerbayev BO, Khramtsova IA. Meat breeds of cattle in the Siberian Federal District. Development strategy for beef cattle breeding and feed production in Siberia: conference proceedings; 2013; Tyumen. Tyumen: Pechatnik; 2013. p. 28–33. (In Russ.). [Инербаев Б. О., Храмцова И. А. Мясные породы крупного рогатого скота в СФО // Стратегия развития мясного скотоводства и кормопроизводства в Сибири: сборник трудов конференции. Тюмень, 2013. С. 28–33.].

22. Gorlov IF, Kaydulina AA, Kolomeytseva AS, Komarova ZB. Innovative technologies for marbled beef from various cattle breeds. Proceedings of Lower Volga Agro-University Complex: Science and Higher Education. 2012;(1):68–71. (In Russ.). [Инновационные технологии производства «мраморной» говядины с использованием различных пород мясного скота / И. Ф. Горлов [и др.] // Известия Нижневолжского агроуниверситетского комплекса: наука и высшее профессиональное образование. 2012. № 1. С. 68–71.]. https://www.elibrary.ru/OWIDTD

23. Kaydulina AA, Randelin AV. Histological studies of the marble beef obtained from Kazakh white-headed bulls at different periods of slaughter. New approaches, principles, and efficiency mechanisms for production and processing of agricultural products: Proceedings of the International Scientific and Practical Conference; 2014; Volgograd. Volgograd: Volga Region

Research Institute of Manufacture and Processing of Meat-and-Milk Production; 2014. p. 55–57. (In Russ.). [Кайдулина А. А., Ранделин А. В. Гистологические исследования «мраморности» говядины, полученной от бычков казахской белоголовой породы при разных сроках убоя // Новые подходы, принципы и механизмы повышения эффективности производства и переработки сельскохозяйственной продукции: Материалы Международной научно-практической конференции. Волгоград, 2014. С. 55–57.]. https://www.elibrary.ru/VXXTFN

24. Santos D, Monteiro MJ, Voss H-P, Komora N, Teixeira P, Pintado M. The most important attributes of beef sensory quality and production variables that can affect it: A review. Livestock Science. 2021;250:104573. https://doi.org/10.1016/j.livsci.2021.104573

25. Androsova AN, Golovko EN, Zabashta NN, Sinelshchikova IA. Effect of the gender status of young cattle on meat productivity and suitability of beef for baby food. Collection of Scientific Papers of KRCAHVM. 2020;9(1):315–321. (In Russ.). https://doi.org/10.34617/41jg-qm96; https://www.elibrary.ru/WACFVH

26. Cheong J-K, Oh Y-T, Lee C-H, Kim K-H, Choy H-N, Kim H-C, *et al.* Effects of geographic locations and year-seasons of birth on ultrasound scanned measures and carcass traits of hanwoo steers. Journal of Animal Science and Technology. 2012;54(4):247–253. (In Korean). https://doi.org/10.5187/JAST.2012.54.4.247

27. Terjung N, Witte F, Heinz V. The dry aged beef paradox: Why dry aging is sometimes not better than wet aging. Meat Science. 2021;172:108355. https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2020.108355

28. Zhukov RB. Changes in the properties of meat during ripening. Innovative developments and their implementation: problems and prospects: Collection of articles of the International Scientific and Practical Conference. Part 1; 2021; Chelyabinsk. Ufa: OMEGA SCIENCE LLC; 2021. p. 180–184. (In Russ.). [Жуков Р. Б. Изменения свойств мяса при созревании // Внедрение результатов инновационных разработок: проблемы и перспективы: Сборник статей Международной научно-практической конференции. Уфа, 2021. С. 180–184.]. https://www.elibrary.ru/EABHBW

29. Korotkaya EV, Sakhabutdinova GF, Vasiliev KI. The study of freezing methods influence on the meat semi-finished products quality indicators. Bulletin of KSAU. 2021;(10):173–178. (In Russ.). https://doi.org/10.36718/1819-4036-2021-10-173-178; https://www.elibrary.ru/BGGDSH

30. Korotkiy IA, Korotkaya EV, Raschepkin AN, Sakhabutdinova GF. Frozen meat-containing semi-finished minced products: Biopolymer packaging materials. Food Processing: Techniques and Technology. 2021;51(1):6–16. (In Russ.). https://doi.org/10.21603/2074-9414-2021-1-6-16; https://www.elibrary.ru/JKPSED

31. Korotkiy IA, Rasshchepkin AN, Korotkaya EV, Sakhabutdinova GF. Improved freezing technology of minced meat products in biopolymer packaging material. ARPN Journal of Engineering and Applied Sciences. 2020;15(21):2547–2554. https://www.elibrary.ru/PWKWFZ

32. Setyabrata D, Tuell JR, Kim B. The effect of aging/freezing sequence and freezing rate on quality attributes of beef loins (*M. longissimus lumborum*). Meat and Muscle Biology. 2019;3(1):488–499. https://doi.org/10.22175/mmb.11234

33. Rodionova NS, Popov ES. Sous-vide process small-sized semi-finished beef: modes and quality indicator. Food Industry. 2015;(10):32–34. (In Russ.). [Родионова Н. С., Попов Е. С. Sous-vide обработка мелкокусковых полуфабрикатов из мяса говядины: режимы и показатели качества // Пищевая промышленность. 2015. № 10. С. 32–34.]. https://www.elibrary.ru/ULVWRX

34. Khvylya SI. Histological method of estimation of impact of freezing and storage on meat microstructure. Kholodilnaya Tekhnika. 2016;(11):44–47. (In Russ.). [Хвыля С. И. Гистологический метод оценки влияния замораживания и хранения на микроструктуру мяса // Холодильная техника. 2016. № 11. С. 44–47.]. https://www.elibrary.ru/ZQODAL

35. Tsaregorodtseva EV. Effect of heat treatment method on the quality of finished meat products. Current Issues of Improving the Technology of Agricultural Production and Processing. 2021;(23):234–237. (In Russ.). [Царегородцева Е. В. Влияние способа тепловой обработки на качество готовых мясных продуктов // Актуальные вопросы совершенствования технологии производства и переработки продукции сельского хозяйства. 2021. № 23. С. 234–237.]. https://www.elibrary.ru/IONVNA

36. Koksharov AA, Mayurnikova LA, Grigor'eva RZ, Petkovich AI, Krapiva TV. Identification and studying the factors forming quality of meat semi-finished products with use of sous vide technology. AIP Conference Proceedings. 2021;2419(1):040001. https://doi.org/10.1063/5.0069972

37. Tunieva EK, Motovilina AA, Mileenkova EV. Several aspects of quality and safety formation in sous-vide products. Vsyo o Myase. 2023;(4):18–21. (In Russ.). https://doi.org/10.21323/2071-2499-2023-4-18-21

38. Anne D, Thierry A, Keisuke S, Michiyo M. Transformation of highly marbled meats under various cooking processes. Meat Science. 2022;189:108810. https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2022.108810

39. García-Segovia P, Andrés-Bello A, Martínez-Monzó J. Effect of cooking method on mechanical properties, color and structure of beef muscle (*M. pectoralis*). Journal of Food Engineering. 2007;80(3):813–821. https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2006.07.010

40. Supaphon P, Kerdpiboon S, Vénien A, Loison O, Sicard J, Rouel J, *et al.* Structural changes in local Thai beef during Sous vide cooking. Meat Science. 2021;175:108442. https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2021.108442

41. Palka K, Daun H. Changes in texture, cooking losses, and myofibrillar structure of bovine *M. semitendinosus* during heating. Meat Science. 1999;51(3):237–243. https://doi.org/10.1016/S0309-1740(98)00119-3

42. Chian FM, Kaur L, Astruc T, Vénien A, Stübler A-S, Aganovic K, *et al.* Shockwave processing of beef brisket in conjunction with sous vide cooking: Effects on protein structural characteristics and muscle microstructure. Food Chemistry. 2021;343:128500. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.128500

43. Chotigavin N, Kerr WL, Klaypradit W, Kerdpiboon S. Novel sous-vide pressure technique affecting properties of local beef muscle. LWT. 2023;175:114439. https://doi.org/10.1016/j.lwt.2023.114439

44. Naqvi ZB, Campbell MA, Latif S, Thomson PC, Astruc T, Friend MA, *et al.* The effect of extended refrigerated storage on the physicochemical, structural, and microbial quality of sous vide cooked *biceps femoris* treated with ginger powder (zingibain). Meat Science. 2022;186:108729. https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2021.108729

45. Yushina YuK, Vostrikova NL, Stanovova IA. Content of residual acid phosphatase activity in liver sausages and offal pates. Vsyo o Myase. 2010;(3):36–37. (In Russ.). [Юшина Ю. К., Вострикова Н. Л., Становова И. А. Исследование содержания остаточной активности кислой фосфатазы в ливерных колбасах и субпродуктовых паштетах // Все о мясе. 2010. № 3. С. 36–37.]. https://www.elibrary.ru/MRYEPH

46. Antipova LV, Slobodyanik VS, Suleymanov SM. Anatomy and histology of farm animals. Moscow: KolosS; 2005. 382 p. (In Russ.). [Антипова Л. В., Слободяник В. С., Сулейманов С. М. Анатомия и гистология сельскохозяйственных животных. М.: КолосС, 2005. 382 с.]. https://www.elibrary.ru/QKXFQT

47. Sultana K, Jayathilakan K, Sajeevkumar VA. Chemistry of animal tissues. In: Chauhan OP, editor. Advances in food chemistry. Singapore: Springer; 2022. pp. 385–437. https://doi.org/10.1007/978-981-19-4796-4_11

ISSN 2074-9414 (Print)
ISSN 2313-1748 (Online)

https://doi.org/10.21603/2074-9414-2024-2-2516
https://elibrary.ru/DKRMJB

Оригинальная статья
https://fptt.ru

Выбор сорбента для элиминации ионов железа из сточных и природных вод

Л. А. Иванова*, И. В. Тимощук, А. К. Горелкина, Е. С. Михайлова, Н. С. Голубева, Е. Н. Неверов, Т. А. Утробина

Кемеровский государственный университет, Кемерово, Россия

Поступила в редакцию: 08.04.2024
Принята после рецензирования: 10.05.2024
Принята к публикации: 04.06.2024

**Л. А. Иванова: lyuda_ivan@mail.ru, https://orcid.org/0000-0002-4103-8780*
И. В. Тимощук: https://orcid.org/0000-0002-1349-2812
А. К. Горелкина: https://orcid.org/0000-0002-3782-2521
Е. С. Михайлова: https://orcid.org/0000-0002-0673-0747
Н. С. Голубева: https://orcid.org/0000-0002-2188-8331
Е. Н. Неверов: https://orcid.org/0000-0002-3542-786X
Т. А. Утробина: https://orcid.org/0009-0001-4883-0340

© Л. А. Иванова, И. В. Тимощук, А. К. Горелкина, Е. С. Михайлова, Н. С. Голубева, Е. Н. Неверов, Т. А. Утробина, 2024

Аннотация.
Тяжелые металлы, такие как железо, являются распространенным компонентом природных и сточных вод. Результаты мониторинговых исследований свидетельствуют о загрязнении подземных вод железом до 30 ПДК вблизи разработок рудных месторождений и карьеров, поскольку этот элемент входит в состав горных пород и почв и вымывается при контакте с водой. Наиболее эффективным и экономически целесообразным методом доочистки природных и сточных вод от ионов железа является адсорбция. Выбор типа адсорбента играет существенную роль в эффективности процесса адсорбции. Цель работы заключалась в выборе наиболее подходящего сорбционного материала для элиминации воды от ионов железа и установлении закономерностей и механизма процесса адсорбции на сорбентах с различными свойствами для создания экологически безопасных и эффективных технологий адсорбционной очистки.
Объектами исследования являлись несколько типов сорбентов, таких как сорбент из углеродистого материала марки СКД-515, сорбционные материалы минерального происхождения АС на основе алюмосиликата и сорбент ОДМ-2Ф на основе осадочной горной породы опоки. Пористую структуру материалов изучали методом порометрии, получение изображений поверхности образца – методом сканирующей электронной микроскопии. Провели исследование равновесия, кинетики и динамики процесса адсорбции железа на сорбентах различной природы.
Для расчета основных адсорбционных параметров использовали уравнения Фрейндлиха и Ленгмюра. Рассчитанные величины энергии Гиббса по уравнению Ленгмюра составили 11,93–20,66 кДж/моль, что свидетельствует о физическом характере процесса адсорбции. Исследование свойств сорбентов в статических условиях свидетельствует об их высокой адсорбционной ёмкости по отношению к железу и позволяет расположить их по эффективности извлечения в ряд АС > СКД-515 > ОДМ-2Ф, что связано с различной структурой материалов. Адсорбция железа протекает в микропорах для СКД-515 и мезопорах для сорбентов АС и ОДМ-2Ф. Изучение кинетики извлечения ионов железа позволило сделать вывод о том, что процесс адсорбции лимитируется внешним массопереносом.
Полученные результаты дают новое понимание механизма адсорбции ионов железа на сорбционных материалах различной структуры, подкрепленное изображениями, которые получили методом сканирующей электронной микроскопии. В динамических условиях исследовали влияние таких параметров, как начальная концентрация, скорость потока и высота слоя загрузки на время непрерывной работы адсорбционной колонны. Система показала эффективную работу, достигнув 99,0 % извлечения ионов Fe^{3+} при следующих условиях: скорость потока 1 л/мин, высота слоя загрузки колонны 0,15 м, диаметр колонны 0,05 м, начальная концентрация 0,5 мг/л (5 ПДК). Также работу колоны тестировали при начальной концентрации ионов железа 50 ПДК, моделируя очистку сточных вод промышленных предприятий. Комплексное исследование адсорбции ионов Fe^{3+} из сточных вод показало эффективную очистку при использовании сорбента марки АС.

Ключевые слова. Ресурсориентированный регион, адсорбция, сорбенты, активные угли, железо, сточные воды, степень очистки

Финансирование. Исследование выполнено в рамках комплексной научно-технической программы полного инновационного цикла «Разработка и внедрение комплекса технологий в областях разведки и добычи 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», утвержденной Распоряжением Правительства Российской Федерации от 11.05.2022 г. № 1144-р, при финансовой поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (Минобрнауки России), № соглашения 075-15-2022-1201 от 30.09.2022 г.

Для цитирования: Выбор сорбента для элиминации ионов железа из сточных и природных вод / Л. А. Иванова [и др.] // Техника и технология пищевых производств. 2024. Т. 54. № 2. С. 398–411. https://doi.org/10.21603/2074-9414-2024-2-2516

https://doi.org/10.21603/2074-9414-2024-2-2516
https://elibrary.ru/DKRMJB

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

Removing Excess Iron from Sewage and Natural Waters: Selecting Optimal Sorbent

Ludmila A. Ivanova*, Irina V. Timoshchuk, Alena K. Gorelkina, Ekaterina S. Mikhaylova, Nadezhda S. Golubeva, Evgeny N. Neverov, Tamara A. Utrobina

Kemerovo State University, Kemerovo, Russia

Received: 08.04.2024
Revised: 10.05.2024
Accepted: 04.06.2024

**Ludmila A. Ivanova: lyuda_ivan@mail.ru, https://orcid.org/0000-0002-4103-8780*
Irina V. Timoshchuk: https://orcid.org/0000-0002-1349-2812
Alena K. Gorelkina: https://orcid.org/0000-0002-3782-2521
Ekaterina S. Mikhaylova: https://orcid.org/0000-0002-0673-0747
Nadezhda S. Golubeva: https://orcid.org/0000-0002-2188-8331
Evgeny N. Neverov: https://orcid.org/0000-0002-3542-786X
Tamara A. Utrobina: https://orcid.org/0009-0001-4883-0340

© L.A. Ivanova, I.V. Timoshchuk, A.K. Gorelkina, E.S. Mikhaylova, N.S. Golubeva, E.N. Neverov, T.A. Utrobina, 2024

Abstract.
Natural waters and wastewaters often contain heavy metals, e.g., iron. Iron ore mining contaminates groundwater with iron up to 30 maximal permissible concentrations (MPC) as this element gets washed out from rock and soil. Adsorption is the most effective and economically feasible method of additional purification of natural and wastewater from iron. Its efficiency depends on the type of adsorbent. The research objective was to select the most efficient sorption material to eliminate water from iron, as well as to establish the adsorption patterns for different sorbents, thus creating sustainable and effective purification. The study featured carbonaceous sorbent of the SKD-515 grade, mineral sorption materials with aluminosilicate of the AC grade, and silicate-based sorbent of the ODM-2F grade. The porous structure was studied by porometry methods while the surface image was obtained using scanning electron microscopy. Other indicators included equilibrium, kinetics, and dynamics of iron adsorption by various sorbents.
The Freundlich and Langmuir equations made it possible to calculate the key adsorption parameters. The Gibbs energy values were obtained from the Langmuir equation and equaled 11.93–20.66 kJ/mol, which indicated the physical nature of the adsorption process. Under static conditions, the sorbents demonstrated a high adsorption capacity with respect to iron, depending on the structure, and could be arranged as AC > SKD-515 > ODM-2F. In SKD-515, iron adsorption occurred in micropores; in AC and ODM-2F, it took place in mesopores. The kinetics of iron extraction showed that the adsorption process was limited by external mass transfer.
The research provided a new understanding of iron adsorption by materials of various structures. The conclusions were supported by scanning electron microscopy images. Initial concentration, flow velocity, and loading layer height were studied in dynamics, i.e., during continuous operation of the adsorption column. The system proved extremely effective and reached 99.0% Fe^{3+} extraction under the following conditions: flow rate = 1 L/min, loading column height = 0.15 m, column diameter = 0.05 m, initial concentration = 0.5 mg/L (5 MPC). The column performance was tested at an initial concentration of iron ions of 50 MPC, which simulated the wastewater treatment at industrial enterprises. This comprehensive study of iron adsorption from wastewater proved the efficiency of the mineral sorption materials with aluminosilicate of AC grade.

Keywords. Resource-oriented region, adsorption, sorbents, activated carbons, iron, wastewater, surface watercourses

Finding. The research was part of the comprehensive research and technical program of complete innovative cycle “Development and implementation of technological complexes in mineral exploration and extraction that ensure industrial safety and bioremediation, as well as provide new deep-processed coal products with consecutive amelioration of environmental and life hazards”, Decree No. 1144-r of the Government of the Russian Federation, Dec. 11, 2022, Contract No. 075-15-2022-1201, Sep. 30, 2022.

For citation: Ivanova LA, Timoshchuk IV, Gorelkina AK, Mikhaylova ES, Golubeva NS, Neverov EN, *et al.* Removing Excess Iron from Sewage and Natural Waters: Selecting Optimal Sorbent. Food Processing: Techniques and Technology. 2024;54(2):398–411. (In Russ.). https://doi.org/10.21603/2074-9414-2024-2-2516

Введение

Добыча полезных ископаемых в ресурсоориентированных районах способствует загрязнению ионами тяжелых металлов различных экосистем, в том числе поверхностных и подземных источников водоснабжения. Ионы тяжелых металлов, в том числе железо,

представляют собой экотоксикологическую опасность, не разлагаются и накапливаются в почве и водоемах, что приводит к вредному воздействию на живые организмы [1–7].

Защита поверхностных и подземных водотоков от истощения, достижение экономически эффективного и обеспечение экологически безопасного водопользования является одной из актуальных и приоритетных задач современности. Мониторинговые данные показывают высокий уровень загрязнения водотоков из-за интенсивной деятельности предприятий ресурсориентированных регионов. Железо является одним из опасных контаминантов для водных объектов, источниками поступления которого являются предприятия металлургической и угольной отрасли, а также естественное вымывание при контакте с водой из горных пород и почв. Существуют риски вторичного загрязнения очищенной воды, проходящей по системе водоснабжения до потребителей, которые необходимо учитывать на предприятиях, использующих воду как сырье в производстве продуктов питания.

Для снижения уровня контаминации и защиты водных ресурсов от истощения необходимо минимизировать сброс сточных вод и забор природной воды за счет создания комплексных экологически безопасных производств с оборотным водоснабжением. Для решения таких задач необходима интеграция фундаментальной науки, органов муниципальной и региональной власти и стейкхолдеров, представляющих предприятия ресурсориентированных регионов [8–11].

Проблема элиминации сточных вод является актуальной в мировом сообществе, т. к. отсутствует возможность предложить универсальную схему и отработать единую технологию очистки сточных вод от ионов тяжелых металлов, в том числе железа. Спектр предлагаемых технологий очистки сточных и природных вод позволяет получить требуемое качество воды на выходе. На сегодняшний день наблюдается тенденция прямой зависимости между степенью очистки и стоимостью внедряемой технологии.

Для извлечения избыточного содержания ионов железа можно использовать следующие методы очистки:
– реагентная обработка, к преимуществам которой можно отнести экономичность, а к недостаткам высокий расход химических реагентов. При очистке высококонцентрированных сточных вод не достигается норматив ПДК очищенной воды. Поэтому реагентный метод используют как начальную стадию при очистке сточных вод на промышленных предприятиях, а в технологии доочистки питьевой воды до нормативов ПДК питьевого водоснабжения не используют совсем;
– ионный обмен для очистки большого объема сточных вод с высокой концентрацией тяжелых металлов применять нецелесообразно, т. к. появляется необходимость утилизации концентрированных регенерационных растворов;
– обратный осмос исключает использование агрессивных химических реагентов, что делает процесс очистки экологически чистым, но требует больших эксплуатационных и капитальных затрат, что делает производство не рентабельным [12–15].

При разработке ресурсосберегающих технологий очистки сточных вод целесообразно использовать метод адсорбции сорбентами как искусственного, так и природного происхождения.

Для создания технологии адсорбционной очистки природных и сточных вод от ионов железа необходим комплексный подход, который включает исследования равновесия, кинетики и динамики адсорбции железа имеющими различную природу сорбентами. Выбор сорбционных материалов зависит от их адсорбционной способности, доступности и стоимости [16–19].

В государственных докладах Минприроды РФ о состоянии окружающей среды отмечено, что «большинство водных объектов на территории Российской Федерации с повышенной антропогенной нагрузкой характеризуются высокой степенью загрязнения и снижения их биосферных функций. В 2023 году экстремально высокие уровни загрязнения поверхностных вод на территории РФ отмечались на 130 водных объектах. Наиболее напряженная экологическая ситуация сложилась в бассейнах рек Волги, Оби, Енисея, Амура, Северной Двины и Печоры, загрязнены также поверхностные воды бассейнов рек Дона, Кубани, Терека и рек бассейна Балтийского моря». Также техногенными примесями загрязнены притоки крупных рек в промышленно развитых регионах (например, р. Томь).

Целью работы являлся выбор наиболее подходящего сорбционного материала для элиминации воды от ионов железа и установление закономерностей и механизма процесса адсорбции на сорбентах с различными свойствами для создания экологически безопасных и эффективных технологий адсорбционной очистки.

Объекты и методы исследования

В качестве объектов исследования использовали сорбционные материалы минерального происхождения: сорбент АС на основе алюмосиликата и сорбент ОДМ-2Ф на основе осадочной горной породы опоки, состоящей из залежей диатомитовых водорослей и простейших, а также активный уголь на основе каменного угля марки СКД-515. Характеристики сорбентов представлены в таблицах 1 и 2.

Предварительно образцы сорбентов отмыли дистиллированной водой от пылевых фракций и высушили до воздушно-сухого состояния. Затем для удаления влаги их прогрели при 105,0 ± 1,0 °С в течение 2 ч и охладили до комнатной температуры в эксикаторе.

Для выявления особенностей адсорбции железа провели исследование равновесия адсорбции из растворов на сорбентах в диапазоне концентраций от 0,005 до 5 мг/дм^3. Определение железа в водных растворах проводили молекулярно-адсорбционным методом

Таблица 1. Характеристики сорбентов

Table 1. Sorbent profile

Характеристики		СКД-515	ОДМ-2Ф	АС
Производитель		ОАО «Сорбент», г. Пермь	ООО «ТД ОКПУР», г. Екатеринбург	ООО «АЛСИС», г. Екатеринбург
Сырье		Смесь каменных углей марок К и Д, коксохимическая смола	Опок	Алюмосиликат
Зернение (форма)		Гранулированный, цилиндр	–	–
Карбонизация и активация		Двустадийная, парогазовая	–	–
Размер частиц, мм		0,5–1,5	0,3–1,5	0,7–1,4
Насыпная плотность, г/см^3		0,52	0,68–0,72	0,46–0,49
Прочность, %		75,00	99,90	99,94
Влагоемкость, %		95	80–95	–
Удельная поверхность пор ($S_{БЭТ}$), м^2/г		791	120–180	–
Суммарный объем пор по воде, см^3/г		0,62	–	–
Объем пор, см^3/г:				
микро-		0,36	–	–
мезо-		0,20	–	
макро-		0,06	–	
pH водной вытяжки		7,6	–	–
Содержание активного кислорода, ммоль-экв/г	фенольный-OH	0,3200	0,3970	0,3002
	карбоксильный-COOH	0,05	–	–
	лактонный-COO	0,157	0,155	0,097

Таблица 2. Рентгеноструктурный анализ сорбентов

Table 2. X-ray diffraction analysis of sorbents

Состав/сорбент	СКД-515	ОДМ-2Ф	АС
MgO, %	0,1	0,1	0,1
Al_2O_3, %	0,5	1,0	1,0
SiO_2, %	8,6	52,7	46,8
P_2O_5, %	0,234	0,063	0,073
K_2O, %	0,12	0,64	0,72
CaO, %	2,16	0,60	0,60
TiO_2, %	0,29	0,42	0,52
Fe_2O_3, %	3,54	3,84	6,12
MnO, мг/кг	530	261	350
V, мг/кг	0	105	173
Cr, мг/кг	26	131	177
Co, мг/кг	67	22	33
Ni, мг/кг	49	48	64
Cu, мг/кг	66	49	68
Zn, мг/кг	106	62	117
As, мг/кг	5	14	14
Sr, мг/кг	851	72	71
Pb, мг/кг	40	15	20
Rb, мг/кг	0	61	69
Zr, мг/кг	20	71	67
Ba, мг/кг	849	301	285

анализа с образованием комплексов железа с $C_7H_6O_6S$ (сульфосалициловая кислота), окрашенных в желтый цвет. Время достижения адсорбционного равновесия определили в статических условиях отдельной серией опытов; оно не превышало 24 ч. Величину адсорбции (a, ммоль/г) для исследуемых сорбентов определенной массы (m, г) устанавливали по разности исходной (C_0, ммоль/дм^3) и равновесной ($C_р$, ммоль/дм^3)

концентраций железа в водном растворе определенного объема (V, дм^3):

$$a = \frac{C_0 - C_p}{m} \times V \quad (1)$$

Пористую структуру материалов изучали с применением порометрии, в основе которой лежит физическая сорбция газов. Изотермы адсорбции получили на приборе ASAP-2400 (Micromeritics, США), который включает два независимых блока. В первом блоке осуществляется предварительная подготовка исследуемых образцов нагреванием в динамическом вакууме. Ампулы с образцами нагревают в печке с заданной температурой в диапазоне от 20 до 350 °С с точностью до 1 °С до достижения устойчивого остаточного давления менее 5×10^{-2} Торр. Затем ампулы охлаждают до 20 ± 5 °С, заполняют азотом марки «особо чистый» до атмосферного давления и перемещают в следующий блок для измерения изотерм адсорбции волюмометрическим методом [20].

Получение изображений поверхности образца методом сканирующей электронной микроскопии в режиме детектирования вторичных электронов осуществляли на приборе JSM_6460LV. Микроскоп электронный растровый JSM-6460LV.

Для установления контролирующего вида массопереноса исследовали адсорбцию в кинетических условиях методом, разработанным Р. М. Марутовским [20, 21]. При изучении кинетики процесса сорбции рассчитали безразмерные кинетические параметры (Т) и построили зависимости величин Т от времени (τ).

Продолжительность процесса адсорбции лимитируется внешним массопереносом и представляет собой линейную зависимость на графике в координатах Т (рассчитанной теоретически) от величины τ (экспериментального времени протекания процесса) при одинаковых значениях γ. В случае отклонения от прямой

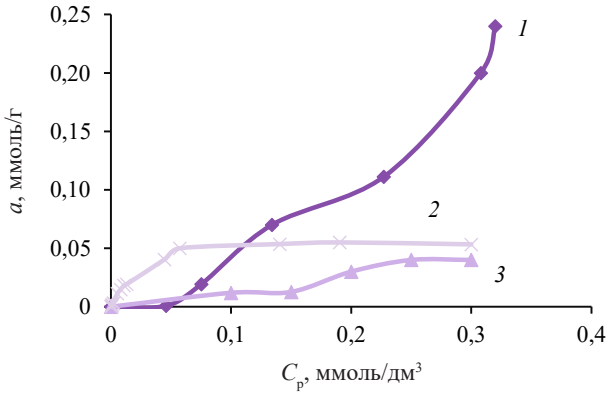


Рисунок 1. Изотермы адсорбции железа из водных растворов сорбентами АС (1), СКД-515(2) и ОДМ-2Ф (3)

Figure 1. Iron adsorption from aqueous solutions by sorbent samples AS (1), SKD-515 (2), and ODM-2F (3)

наблюдается падение скорости внешнего массопереноса, пропорционального градиенту.

Для оценки степени очистки сточных вод, содержащих железо (50 ПДК), в динамических условиях использовали лабораторную установку. Модельный раствор пропускали через лабораторную установку, заполненную фильтрующим слоем сорбента. Предварительные исследования динамики адсорбции позволили выбрать параметры изменения конструкционных особенностей колонны: высота слоя загрузки 0,1–0,3 м, диаметр 0,05 м [19]. Предварительная подготовка сорбционного материала заключалась в обработке дистиллированной водой и сушке при температуре 20 ± 5 °С. Исследование влияния скорости подачи раствора в фильтрующую колонку на эффективность очистки проводилось в диапазоне 0,5–2,0 дм^3/мин. Весь собранный фильтрат был проанализирован на ионы Fe^{3+}.

Результаты и их обсуждение

Одним из основных критериев оценки адсорбционных свойств сорбентов являются изотермы адсорбции, которые позволяют определять зависимость активности сорбента (сорбционной ёмкости) от концентрации адсорбата в условиях равновесия и установить особенности и механизм адсорбции на основе формы изотерм. По экспериментальным данным построили изотермы адсорбции железа из водных растворов, которые представлены на рисунке 1.

Классический вид изотерм адсорбции железа на сорбентах СКД-515 и ОДМ-2Ф растворов относится по классификации Гильса к L типу, что подтверждает физический характер адсорбции. S-образная форма изотермы адсорбции железа из растворов на сорбенте АС свидетельствует о слабом физическом характере взаимодействия адсорбент – адсорбат.

Выявили зависимость увеличения адсорбции железа из раствора на исследуемых адсорбентах: ОДМ-2Ф < СКД-515 < АС.

Учитывая, что наиболее вероятный механизм адсорбции железа из водных растворов исследуемыми сорбентами является комплексообразование или ионный обмен, что предполагает мономолекулярное взаимодействие адсорбата с активными центрами, то расчет основных параметров адсорбции выполнили с использованием уравнений Фрейндлиха и Ленгмюра (табл. 3). Изотермы адсорбции в соответствующих координатах линеаризации для сорбентов АС, ОДМ-2Ф и СКД-515 представлены на рисунке 2.

Изменение основных параметров адсорбции, рассчитанных по уравнению Фрейндлиха, и величин энергии Гиббса (ΔG), рассчитанных по уравнению Ленгмюра, позволяет предположить, что процесс адсорбции на сорбентах протекает самопроизвольно за счет устойчивого закрепления ионов железа на поверхности углеродных сорбентов.

Высокая степень извлечения ионов железа может происходить за счет взаимосвязи с активными центрами

Таблица 3. Адсорбционные характеристики сорбентов при адсорбции железа из раствора

Table 3. Adsorption properties of sorbents during iron adsorption from aqueous solutions

Сорбенты	Уравнение Фрейндлиха			Модель Ленгмюра		
	1/n	k	R^2	a_{max}, мг/г	–G, кДж/моль	R^2
АС	2,690	7,150	90,17	4,810	11,93	99,08
ОДМ-2Ф	1,080	0,027	85,25	0,420	20,66	80,09
СКД-515	1,750	0,310	92,08	3,610	17,93	97,68

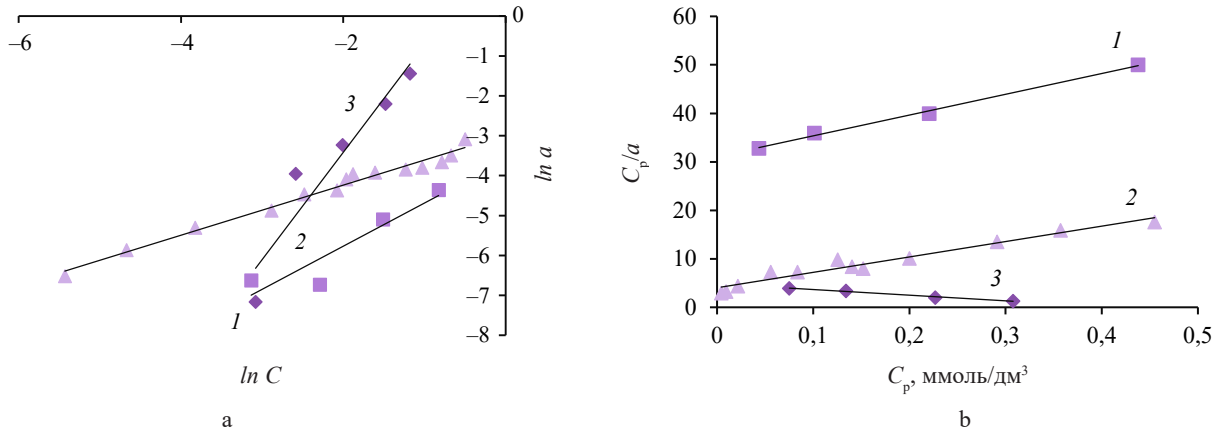


Рисунок 2. Адсорбционные изотермы ионов железа из водных растворов на сорбентах ОДМ-2Ф (1), СКД-515(2) и АС (3) в координатах Фрейндлиха (a) и Ленгмюра (b)

Figure 2. Iron adsorption from aqueous solutions by sorbent samples ODM-2F (1), SKD-515 (2), and AS (3) in Freundlich (a) and Langmuir (b) coordinates

на поверхности сорбента из-за реакций ионного обмена и комплексообразования. Определяющим фактором является как общее количество поверхностных групп, способных к ионному обмену, так и их доступность.

Полученные данные позволили рассчитать теоретические изотермы адсорбции железа для используемых моделей (рис. 3). Сравнительный анализ полученных теоретических и экспериментальных адсорбционных изотерм сорбционных материалов ОДМ-2Ф и СКД-515 показал, что для всех исследуемых систем изотермы удовлетворительно описываются моделями Ленгмюра и Фрейндлиха. Уравнение Ленгмюра (величина достоверности аппроксимации $R_2 = 0{,}80$ для ОДМ-2Ф и 0,98 для СКД-515) лучше описывает адсорбционное поведение ионов железа, чем уравнение Фрейндлиха ($R_2 = 0{,}85$ для ОДМ-2Ф и 0,92 для СКД-515). Для сорбента АС изотермы удовлетворительно описываются только моделью Фрейндлиха.

Для характеризации пористой структуры материалов выполнили адсорбционную порометрию, основанную на физической адсорбции простых газов при температурах равной или близкой температурам их кипения при атмосферном давлении, т. е. анализ удельной поверхности и пористой структуры образцов методом азотной порометрии.

На рисунке 4 на примере сорбента СКД-515 представлены изотермы адсорбции N2 (77 K) для исходного сорбента и сорбента после адсорбции железа. Изотермы имеют тип I по классификации IUPAC с практически отсутствующим гистерезисом типа H4. Это характеризует материалы как микропористые. Распределение пор по размерам рассчитали методом регуляризации на основе модели QSDFT для щелевидных пор в углях и показали на рисунке 5 для СКД-515. Все материалы характеризуются относительно широким распределением микропор от 0,03 до 4 нм с максимумом около 0,90 нм. Максимумы на распределениях соответствуют адсорбционным данным на краю измерительного диапазона, т. е. 10^{-3} p/p°.

Изотермы адсорбции сорбента АС и ОДМ-2Ф можно отнести к типу II по классификации IUPAC, что характеризует материалы как мезопористые. Тип петли капиллярно-конденсационного гистерезиса соответствует H5. Обычно этот тип характерен для материалов с однородными слабо взаимосвязанными порами, имеющими перемычки (сужения – расширения). В данном случае наблюдается смыкание петель гистерезиса при p/p° ~ 0,45, что соответствует кавитационному испарению из пор размером менее 4 нм. На распределениях пор по размерам можно наблюдать наличие мезопор с характерным размером от 2 до 20 нм с максимумом в районе 7 нм. Также в материалах исходного сорбента АС присутствуют поры менее 6 нм, соответствующие сужениям. Текстурные характеристики образцов представлены в таблице 4.

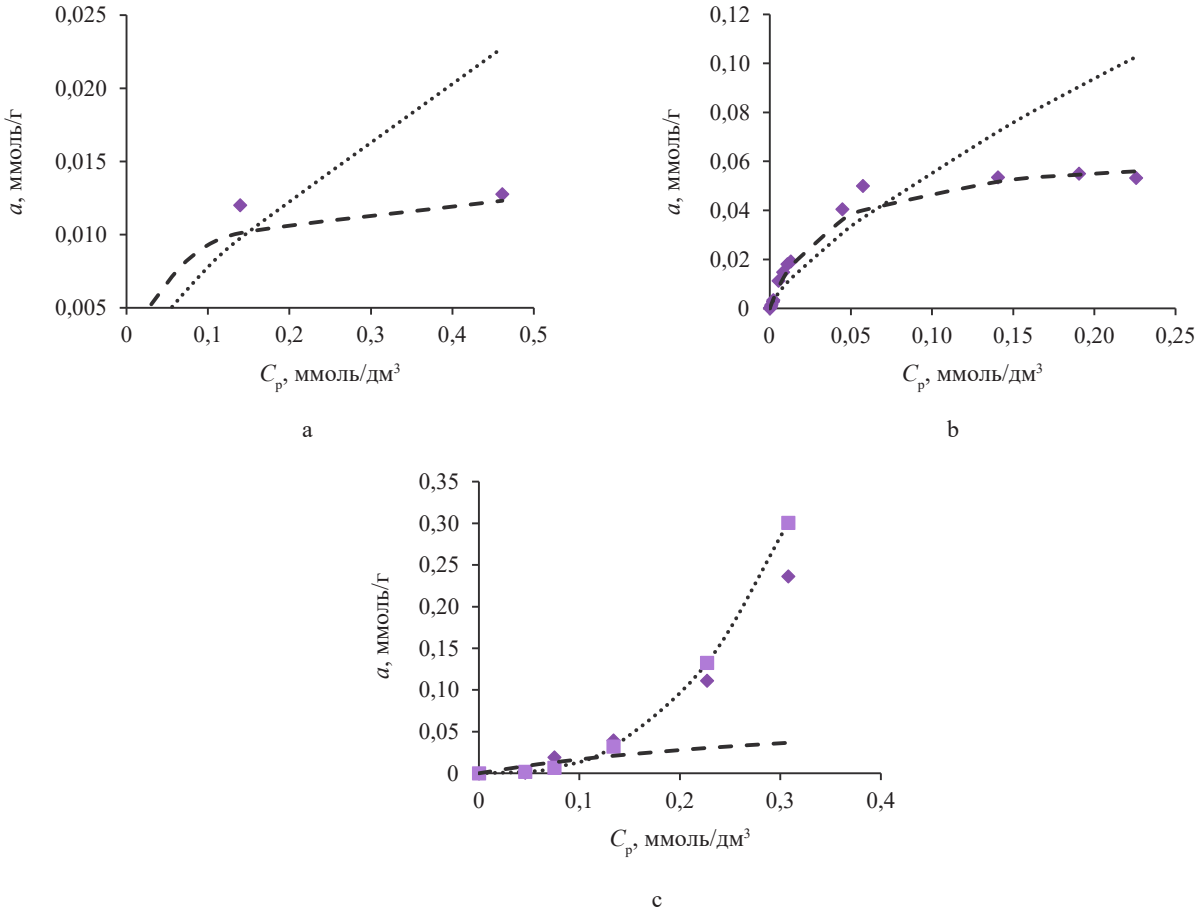


Рисунок 3. Экспериментальные адсорбционные изотермы (♦) ионов железа на сорбентах ОДМ-2Ф (a), СКД-515 (b) и АС (c), рассчитанные по уравнению Ленгмюра (- - -) и Фрейндлиха (·····)

Figure 3. Experimental iron adsorption isotherms (♦) by sorbent samples ODM-2F (a), SKD-515 (b), and AS (c): Langmuir equation (- - -), Freundlich (·····)

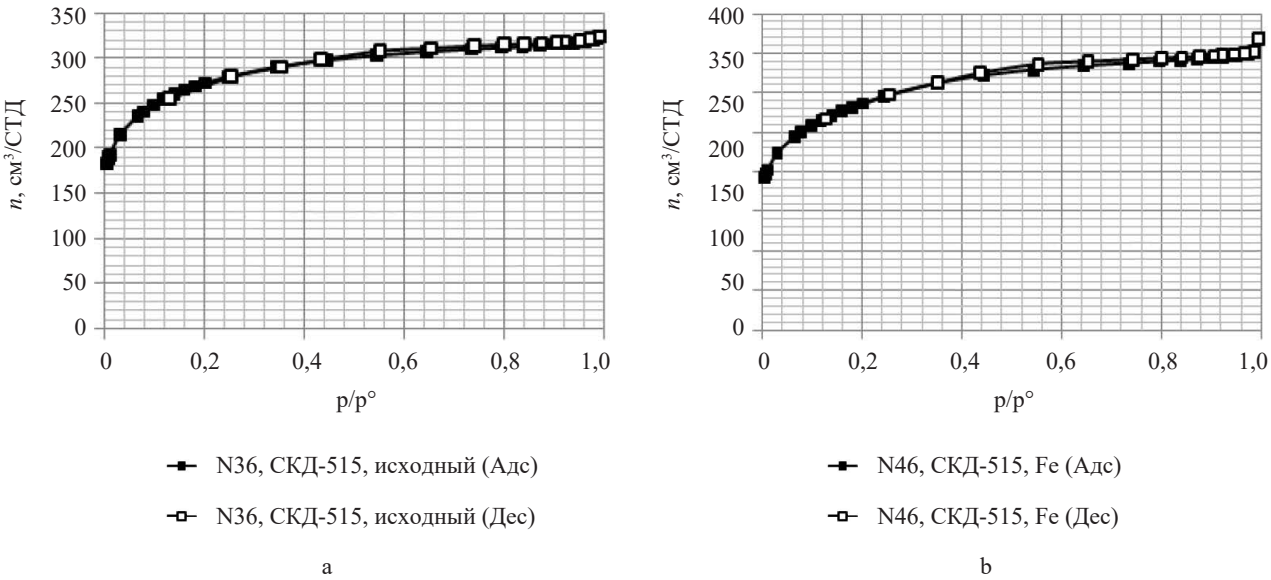


Рисунок 4. Изотермы адсорбции N_2 (77 K) для образцов СКД-515: a – исходный, b – после адсорбции железа

Figure 4. Adsorption isotherms N2 (77 K) for SKD-515 samples: a – initial level, b – after iron adsorption

Анализ данных, приведенных в таблице 4, показал, что для образцов АС и ОДМ-2Ф изменений структурно-сорбционных параметров в значительной степени не происходит. Образец на основе СКД-515 (исходный сорбент и сорбент после адсорбции железа) является микропористым без заметного вклада мезопор. Увеличение удельной поверхности сорбентов при извлечении ионов железа происходит в связи с окислительными процессами в мезопористом пространстве.

Для визуализации изменения структуры поверхности материала получили изображения (рис. 6–11) методом сканирующей электронной микроскопии в режиме детектирования вторичных электронов на приборе JSM_6460LV.

Представленные изображения поверхности образцов сорбентов, полученных методом сканирующей электронной микроскопии, показали, что структура минеральных сорбентов марок АС и ОДМ-2Ф не равномерна, присутствуют дефектные участки в форме углублений, образцы имеют слабо взаимосвязанные поры, имеющие перемычки (сужения – расширения). Сорбенты АС и ОДМ-2Ф относятся к мезопористым

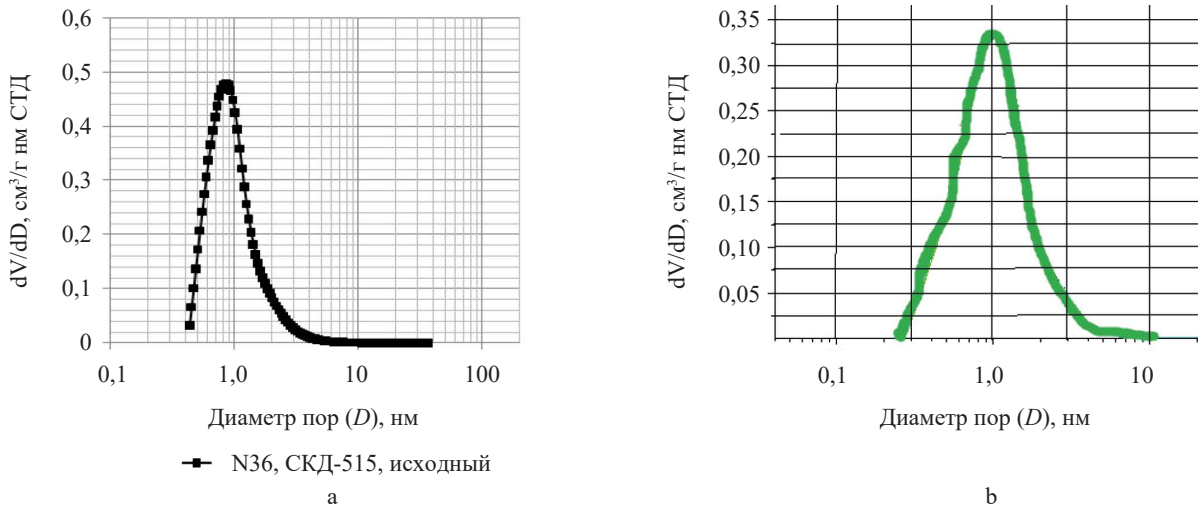


Рисунок 5. Распределения пор по размерам для образцов СКД-515: a – исходный, b – после адсорбции железа

Figure 5. Pore size distributions for SKD-515 samples: a – initial level, b – after iron adsorption

Таблица 4. Значения текстурных характеристик по данным адсорбции N_2 и Ar при 77 К

Table 4. Texture profile based on N2 and Ar adsorption data at 77K

Образец	a_S, м²/г	$C_{БЭТ}$	$a_{мезо}$, м²/г	$V_{микро}$, см³/г	$V_{сумм}$, см³/г
АС исходный сорбент	93	86	85	0,003	0,185
АС после адсорбции ионов железа	88	122	81	0,003	0,184
ОДМ-2Ф исходный сорбент	73	88	64	0,004	0,145
ОДМ-2Ф после адсорбции ионов железа	70	99	66	0,002	0,202
СКД-515 исходный сорбент	983	307	62	0,435	0,496
СКД-515 после адсорбции ионов железа	1023	628	–	0,427	0,542

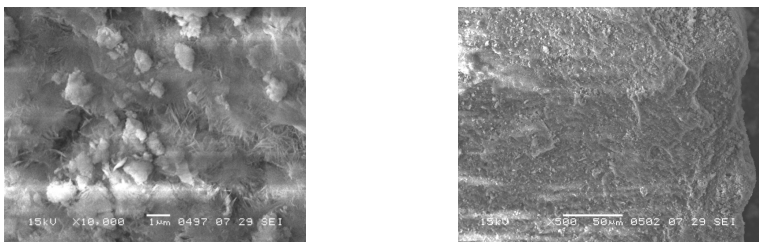


Рисунок 6. Изображения пористой структуры материала марки АС

Figure 6. Porous structure: AC sample

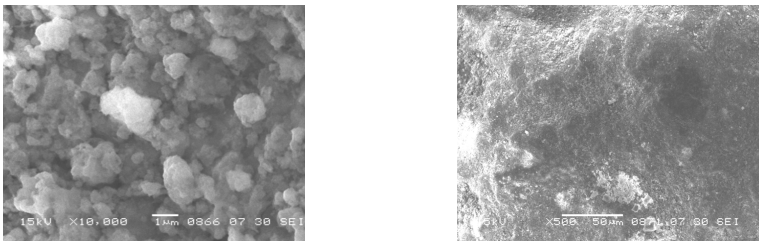


Рисунок 7. Изображения пористой структуры сорбента АС после адсорбции железа

Figure 7. Porous structure: AC sample after iron adsorption

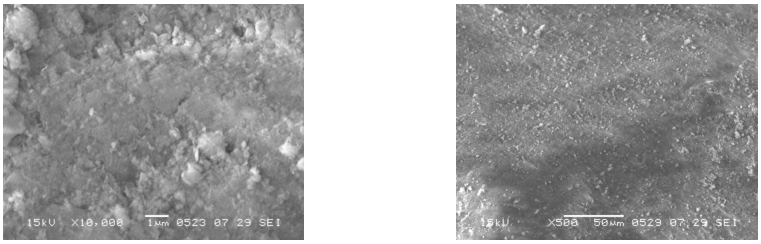


Рисунок 8. Изображения пористой структуры материала марки ОДМ-2Ф

Figure 8. Porous structure: ODM-2F sample

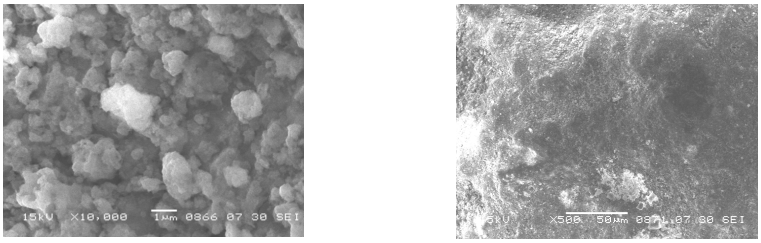


Рисунок 9. Изображения пористой структуры сорбента ОДМ-2Ф после адсорбции железа

Figure 9. Porous structure: ODM-2F sample after iron adsorption

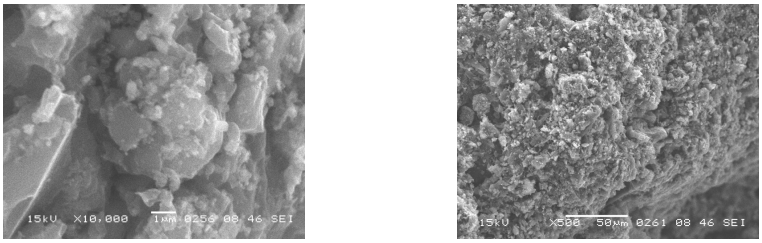


Рисунок 10. Изображения пористой структуры материала марки СКД-515

Figure 10. Porous structure: SKD-515 sample

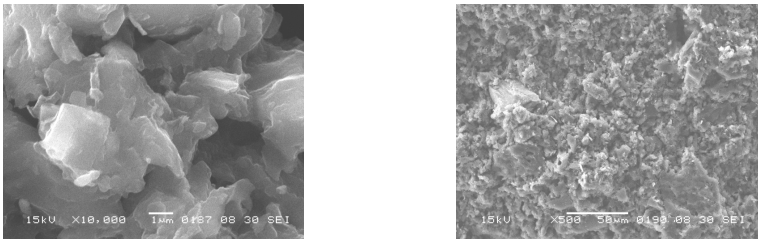


Рисунок 11. Изображения пористой структуры сорбента СКД-515 после адсорбции ионов железа

Figure 11. Porous structure: SKD-515 sample after iron adsorption

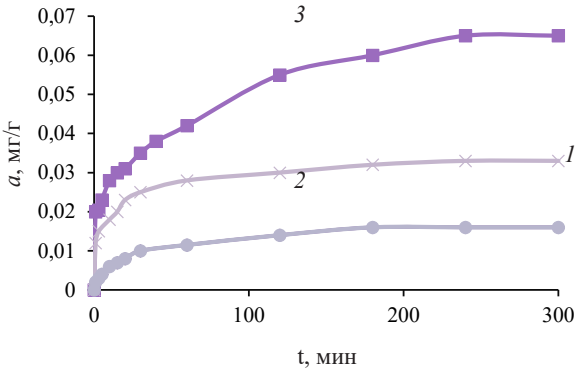


Рисунок 12. Кинетические кривые извлечения для сорбентов АС (1), СКД-515 (2) и ОДМ-2Ф (3)

Figure 12. Kinetic extraction curves for sorbent samples AS (1), SKD-515 (2), and ODM-2F (3)

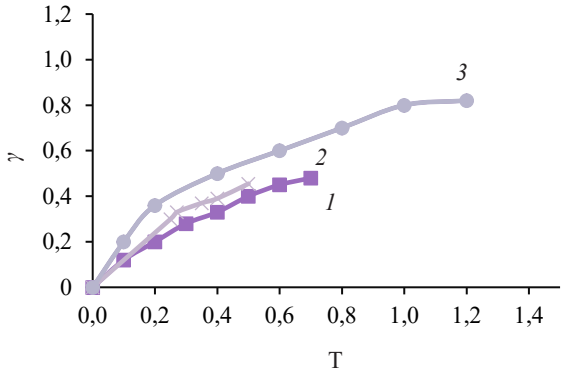


Рисунок 13. Зависимость степени достижения адсорбционного равновесия γ от T (теоретические кинетические кривые) для сорбентов АС (1), ОДМ-2Ф (2) и СКД-515 (3)

Figure 13. Effect of T degree (experimental) on adsorption equilibrium degree γ sorbent samples AC (1), ODM-2F (2), and SKD-515 (3)

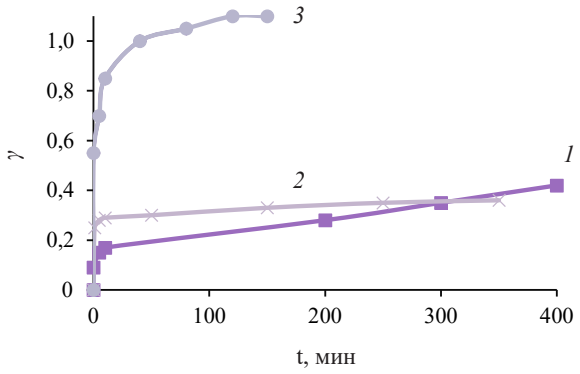


Рисунок 14. Зависимости степени достижения адсорбционного равновесия γ от времени адсорбции τ (экспериментальных) для сорбентов АС (1), ОДМ-2Ф (2) и СКД-515 (3)

Figure 14. Effect of adsorption τ time degree (experimental) on adsorption equilibrium degree γ sorbent samples AC (1), ODM-2F (2), and SKD-515 (3)

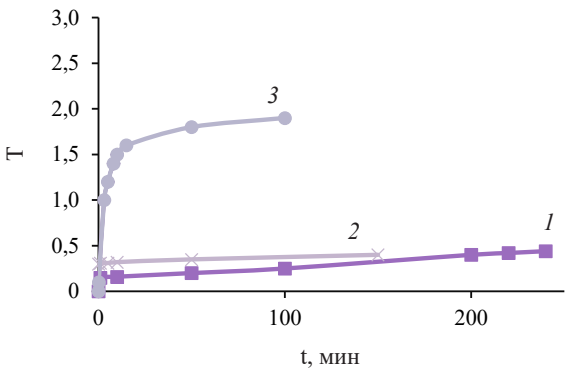


Рисунок 15. Теоретические кинетические кривые процесса извлечения для сорбентов АС (1), ОДМ-2Ф (2) и СКД-515 (3)

Figure 15. Calculated kinetic curves of extraction: samples AS (1), ODM-2F (2), and SKD-515 (3)

материалам. Снижение удельной поверхности при извлечении ряда загрязнителей может свидетельствовать об удерживании веществ в соответствующем мезопористом пространстве. Сорбент СКД-515 можно отнести к микропористым.

Для установления лимитирующей стадии процесса извлечения железа провели кинетические исследования. Кинетические кривые извлечения железа из водного раствора в кинетических условиях представлены на рисунках 12–15.

График зависимости T от величины экспериментального времени протекания процесса (τ) при одинаковых значениях γ представляет собой прямую для сорбционного материала АС до 250 мин, для ОДМ-2Ф до 30 мин, для СКД-515 до 20 мин. Следовательно, кинетика извлечения лимитируется внешним массопереносом. Отклонение экспериментальных точек от прямой свидетельствует о том, что контролировать кинетику начинает внутренний массоперенос.

При работе адсорбционной колонны с неподвижным слоем сорбента время работы системы до проскока может быть связано с такими параметрами, как высота слоя загрузки, диаметр колонны, исходная концентрация загрязняющего вещества, скорость потока и др. Целью моделирования работы колонны в динамических условиях является снижение начальной концентрации растворенного вещества (загрязнителя), подаваемого в колонну, до нормативных значений. В начале работы колонны (первая стадия сорбции) происходит 100 % поглощение адсорбтива адсорбентом. По ходу насыщения сорбирующего материала постепенно происходит проскок загрязняющего вещества и наступает т. н. точка «прорыва» или точка насыщения, когда концентрация ионов в фильтрате составляет 99 % от исходной.

Основной целью при выборе конструктивных параметров адсорбционных колон является возможность прогнозировать время работы до проскока растворенного вещества (загрязнителя).

Исследование адсорбции железа из водных растворов в динамических условиях проводилось на лабораторной установке, схема которой представлена на рисунке 16.

Перед началом адсорбции предварительно подготовленная вода, содержащая ионы железа с концентрацией 5 мг/л, поступала в ёмкость Е1, откуда насосом Н1 подавалась на фильтровальную колонку ФЗ с зернистой загрузкой. Скорость фильтрации устанавливалась кранами К1 и К2. Получаемый фильтрат собирался в промежуточную ёмкость. Расчет степени очистки сточных вод от ионов железа выполнили по формуле [7]:

$$\varepsilon = \frac{C_0 - C_к}{C_0} \times 100 \quad (1)$$

где ε – степень очистки сточных вод, %; C_0 – начальная концентрация взвешенных веществ, мг/л; $C_к$ – концентрация взвешенных веществ на выходе из колонки после пропускания 200 л сточных вод, мг/л;

Экспериментальные данные показали, что суммарная степень очистки за 5 циклов (100 л) из раствора железа сорбентом АС составила 77,5 %, сорбентом ОДМ-2Ф – 60,9 %, сорбентом СКД-515 – 96,12 % (рис. 17).

Для выбора наилучшего варианта в качестве сорбционного материала для очистки сточных вод от ионов железа необходимо сопоставить удельную стоимость очистки одного литра сточных вод исследуемыми материалами (табл. 5).

Таким образом, наиболее эффективным и доступным сорбционным материалом является АС.

Изучение процесса динамики извлечения контаминантов активными углями – большое практическое значение для выбора параметров очистки и конструктивных характеристик предлагаемой адсорбционной колонны. Определение прорыва и точки насыщения (концентрация ионов в фильтрате составляет 99 % от исходной) с помощью выходных кривых адсорбции поможет установить время работы колонны до регенерации сорбционного слоя или его обновления.

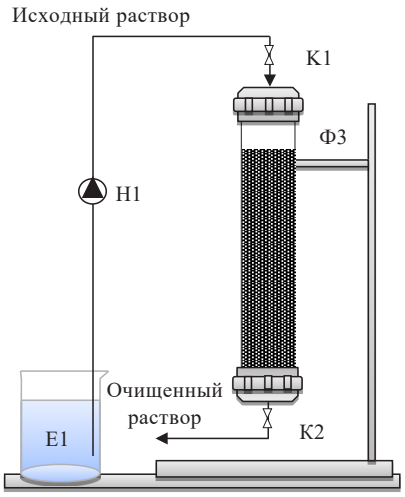


Рисунок 16. Принципиальная схема лабораторной установки механической фильтрации

Figure 16. Laboratory mechanical filtration installation

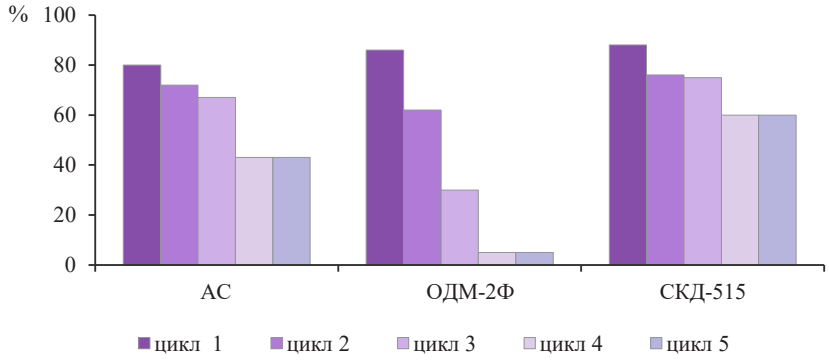


Рисунок 17. Степень извлечения железа из раствора, содержащего железо, различными материалами

Figure 17. Iron extraction by various materials

Таблица 5. Удельная стоимость очистки сточных вод от ионов железа исследуемыми сорбентами

Table 5. Specific costs of wastewater treatment with various sorbents

Сорбент	Количество очищенной воды до достижения ПДК, л	Стоимость загрузки для лабораторной установки, руб.	Удельная стоимость очистки одного литра сточных вод, руб./л
АС	450	54	0,12
ОДМ-2Ф	404	52	0,13
СКД	547	748	1,34

Изучили влияние начальной концентрации ионов железа в водном растворе на время работы колонны в диапазоне 5–50 ПДК (0,5–5 мг/л). Скорость подачи раствора в адсорбционную колонну составила 1 л/мин; в качестве сорбционного материала выбрали АС.

Сравнивая поведение адсорбции ионов железа при всем диапазоне начальных концентраций (рис. 18), можно отметить, что процесс протекает в два этапа. На первом этапе происходит быстрая адсорбция за счет наличия активных центров в поверхностных слоях, на втором – снижение сорбционного взаимодействия из-за формирования барьера из сорбируемых молекул. Проведение процесса в два этапа приводит к увеличению сопротивления массообмену и снижает эффективность адсорбции. Таким образом, повышение начальной концентрации ионов железа в растворе приводит к увеличению количества Fe^{2+}, адсорбирующегося на поверхности сорбента, но снижает степень очистки.

Влияние скорости подачи раствора в адсорбционную колонну на время наступления точки насыщения проводили в диапазоне от 0,5–2 л/мин при начальной концентрации ионов железа в растворе 0,5 мг/л (рис. 19).

Характер выходных кривых, приведенных на рисунке 19, позволяет отметить, что снижение скорости потока способствует увеличению времени контакта ионов железа с адсорбционным слоем, что приводит к увеличению времени наступления точки насыщения. При увеличении скорости потока в 2 раза точка прорыва наступает на 150 мин раньше (снижение составляет 37,5 %), а при увлечении в 3 раза – на 250 мин раньше (или 50 %).

Полученные кривые динамики адсорбции позволяют сделать вывод о том, что процесс извлечения ионов железа из водных растворов на сорбенте марки АС проходит в два этапа: 1 – транспортировка ионов к внешней поверхности сорбента (пленочная диффузия); 2 – внутренний транспорт через поры сорбционного материала, преодолевая барьер, в виде образованного поверхностного слоя. Снижение времени наступления точки прорыва при увеличении скорости потока позволяет сделать вывод о том, что в нашем случае преобладает второй этап массопереноса (внутренний транспорт), что при увеличении концентрации и скорости потока приводит к снижению времени динамики адсорбции

Зависимость высоты загрузки адсорбционной колонны на динамические характеристики процесса адсорбции представлена на рисунке 20. Диапазон

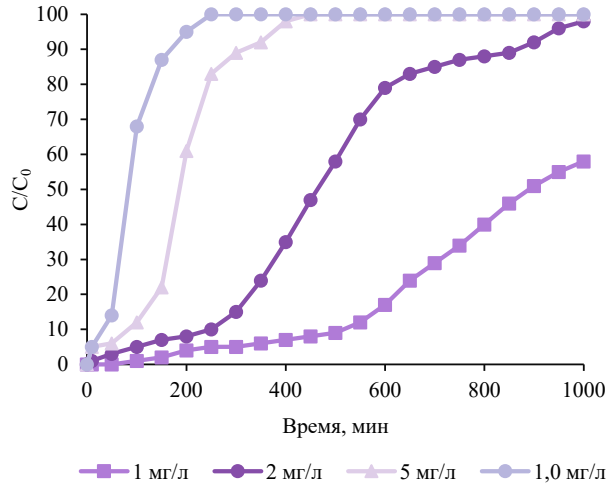


Рисунок 18. Выходные кривые динамики адсорбции железа от начальной концентрации

Figure 18. Iron adsorption dynamics vs. initial concentration

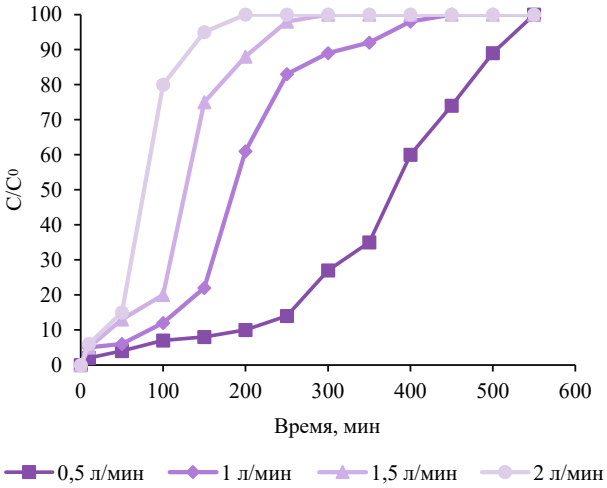


Рисунок 19. Выходные кривые динамики адсорбции железа от скорости потока

Figure 19. Iron adsorption dynamics vs. flow rate

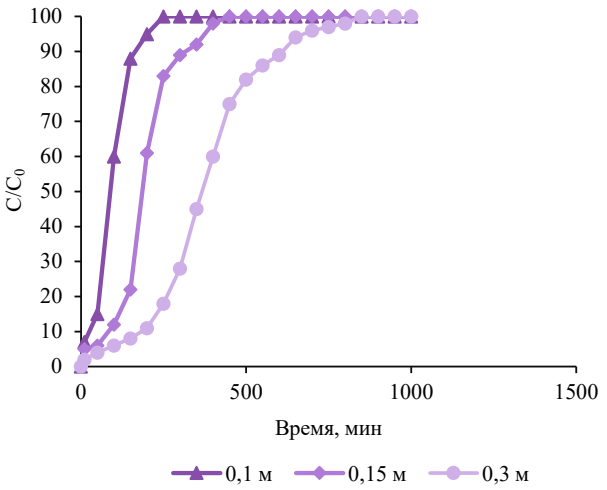


Рисунок 20. Зависимость времени проскока адсорбтива от высоты слоя загрузки

Figure 20. Effect of loading layer height on adsorbent breakthrough time

высоты загрузки варьировался от 0,1 до 0,3 м при начальной концентрации ионов железа в растворе 0,5 мг/л и скорость потока 1 л/мин.

Увеличение высоты слоя загрузки сорбента в адсорбционной колонне приводит к повышению доступных активных участков адсорбции ионов железа на поверхности сорбента, а также увеличивает время контакта сорбента с загрязнителем, что приводит к повышению времени до наступления точки насыщения. Для решения данной задачи провели изучение зависимости динамического поведения адсорбционной колонны.

Выводы

Изучение адсорбционных свойств исследованных сорбентов в статических условиях свидетельствует об их высокой адсорбционной ёмкости по отношению к железу и позволяет расположить их по эффективности извлечения в ряд АС > СКД-515 > ОДМ-2Ф, что связано с различной структурой исследуемых сорбентов. Исследования показали, что адсорбция железа протекает в микропорах для СКД-515 и мезопорах для сорбентов АС и ОДМ-2Ф. По результатам комплексного исследования адсорбции в статических, кинетических и динамических условиях для адсорбционного извлечения может быть рекомендован сорбент АС. На выбор этого сорбента для рекомендации в промышленное использование влияло более низкая удельная стоимость одного литра очищаемой воды.

Изучение процесса адсорбции в динамических условиях позволило выявить зависимости начальной концентрации ионов Fe^{3+}, скорости адсорбции и высоты слоя загрузки на время работы колонны до наступления точки насыщения. Сорбент марки АС удалил более 90 % начальной концентрации ионов железа в первые 50 мин непрерывного процесса адсорбции. Снижение скорости потока приводит к увеличению работы колонны за счет повышения времени контакта между адсорбентом и адсорбатом. Увеличение скорости загрузки в 2 раза повышает время непрерывной работы колонны на 30 % за счет предоставления больше активных центров для адсорбции. Результаты экспериментальных исследований позволяют сделать вывод о том, что повышение начальной концентрации ионов железа в воде требует снижения скорости адсорбции и увеличения высоты слоя загрузки сорбента в колоне для достижения оптимального времени работы колонны. Масштабирование процесса адсорбции в динамических условиях до промышленного уровня не ограничивается этими параметрами, но не является целью данного исследования.

Критерии авторства

Авторы в равной степени участвовали в подготовке и написании статьи.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Contribution

All the authors bear equal responsibility for the content of the article.

Conflict of interest

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

References/Список литературы

1. Kaljukova EN, Pismenko VT, Ivanskaya NN. Adsorption of manganese and iron cations by natural sorbents. Sorption and Chromatography Processes. 2010;10(2):194–198. (In Russ.). [Калюкова Е. Н., Письменко В. Т., Иванская Н. Н. Адсорбция катионов марганца и железа природными сорбентами // Сорбционные и хроматографические процессы. 2010. Т. 10. № 2. С. 194–198.]. https://elibrary.ru/MUEQSJ

2. Bibanaeva SA, Skachkov VM. Sorption of heavy metals from aqueous solutions with synthetic zeolites. Physical and Chemical Aspects of the Study of Custers, Nanostructures and Nanomaterials. 2023;(15):924–929. (In Russ.). https://doi.org/10.26456/pcascnn/2023.15.924; https://elibrary.ru/SWCQJA

3. Poleshchuk IN, Pinigina IA, Sozykina ES. Extracting ions of iron (III) from aqueous solutions by natural sorbents modified. Modern High Technologies. 2019;(3–2):227–231. (In Russ.). [Полещук И. Н., Пинигина И. А., Созыкина Е. С. Извлечение ионов железа (III) из водных растворов модифицированными природными сорбентами // Современные наукоемкие технологии. 2019. № 3–2. С. 227–231.]. https://elibrary.ru/ZEKOVN

4. Chakraborty R, Asthana A, Singh AK, Jain B, Susan ABH. Adsorption of heavy metal ions by various low-cost adsorbents: A review. International Journal of Environmental Analytical Chemistry. 2020;102(2):342–379. https://doi.org/10.1080/03067319.2020.1722811

5. Kochkarev PV, Koshurnikova MA, Sergeyev AA, Shiryaev VV. Trace elements in the meat and internal organs of the mountain hare (*Lepus timidus* L., 1758) in the North of the Krasnoyarsk region. Food Processing: Techniques and Technology. 2023;53(2):217–230. (In Russ.). https://doi.org/10.21603/2074-9414-2023-2-2436

6. 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

7. Islam MS, Mustafa RA. Assessment of trace elements in canned fish and health risk appraisal. Foods and Raw Materials. 2023;11(1):43–56. https://doi.org/10.21603/2308-4057-2023-1-554

8. Tarasevich YuI, Goncharuk VV, Polyakov VE, Krysenko DA, Ivanova ZG, Aksenenko EV, *et al.* Efficient technology for the removal of iron and manganese ions from artesian water using clinoptilolite. Journal of Industrial and Engineering Chemistry. 2012;18(4):1438–1440. https://doi.org/10.1016/j.jiec.2012.02.004

9. Gonchikov VCh, Gubaydulina TA, Kaminskaya OV, Apkar′yan AS. Filter material for purifying water from iron, manganese, and hydrogen sulfide. Bulletin of the Tomsk Polytechnic University. 2012;320(3):37–40. (In Russ.). [Фильтрующий материал для очистки воды от железа, марганца и сероводорода / В. Ч. Гончиков [и др.] // Известия Томского политехнического университета. 2012. Т. 320. № 3. С. 37–40.]. https://elibrary.ru/oxjtbn

10. Krasnova TA, Belyaeva EE, Belyaeva OV, Gora NV, Ivanova LA. The use of carbon sorbents to remove manganese from aqueous media. Water Supply and Sanitary Technique. 2022;(7):18–24. (In Russ.). https://doi.org/10.35776/VST.2022.07.03; https://elibrary.ru/OPPBQZ

11. Diaz-Alarcón JA, Alfonso-Pérez MP, Vergara-Gómez I, Díaz-Lagos M, Martínez-Ovalle SA. Removal of iron and manganese in groundwater through magnetotactic bacteria. Journal of Environmental Management. 2019;249:109381. https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2019.109381

12. Du X, Yang W, Liu Y, Zhang W, Wang Z, Nie J, *et al.* Removal of manganese, ferrous and antibiotics from groundwater simultaneously using peroxymonosulfate-assisted *in-situ* oxidation/coagulation integrated with ceramic membrane process. Separation and Purification Technology. 2020;252:1174921. https://doi.org/10.1016/j.seppur.2020.117492

13. Du X, Liu G, Qu F, Li K, Shao S, Li G, *et al.* Removal of iron, manganese and ammonia from groundwater using a PAC-MBR system: The anti-pollution ability, microbial population and membrane fouling. Desalination. 2017;403:97–106. https://doi.org/10.1016/j.desal.2016.03.002

14. Yakovleva AA, Nguyen TT. To the question of the barrier qualities of the sands of northern and central Vietnam. Sorption of iron (III) ions. Russian Journal of General Chemistry. 2020;64(2):80–84. (In Russ.). https://doi.org/10.6060/rcj.2020642.12; https://elibrary.ru/PFGXVX

15. Yakovleva AA, Nguyen TT, Nguyen TH. Some kinetic models of the sorption iron (III) ions on the surface of river sand from Vietnam. Modern Technologies and Scientific and Technological Progress. 2020;1(7):97–98. (In Russ.). https://doi.org/10.36629/2686-9896-2020-1-97-98; https://elibrary.ru/AJAQVY

16. Mikhnevich EI, Propolsky DE. Methods of deironing of water, analysis and condition of their use. Land Reclamation. 2017;(2):59–65. (In Russ.). [Михневич Э. И., Пропольский Д. Э. Анализ методов обезжелезивания воды и условия их применения // Мелиорация. 2017. № 2. С. 59–65.]. https://elibrary.ru/WIAHJY

17. Poleshchuk IN, Pinigina IA, Sazykina ES. Extracting ions of iron (III) from aqueous solutions by natural sorbents. Modern High Technologies. 2019;(3–1):65–69. (In Russ.). [Полещук И. Н., Пинигина И. А., Созыкина Е. С. Извлечение ионов железа (III) из водных растворов природными сорбентами // Современные наукоемкие технологии. 2019. № 3–1. С. 65–69.]. https://elibrary.ru/ZDHTVR

18. Lysenko AV, Molokoedova TA, Sokolova YuV. Sotherms of the sorption of FE^{2+}, FE^{3+} ions by industrial waste from aqueous solutions. Proceedings of the Southwest State University. Series: Engineering and Technologies. 2023;13(2):235–249. https://doi.org/10.21869/2223-1528-2023-13-2-235-249; https://elibrary.ru/BQFDOQ

19. Krasnova TA, Gora NV, Belyaeva OV, Gorelkina AK, Golubeva NS, Timoshchuk IV. The use of semi-coke for phenol removal from aqueous solutions. Carbon Letters. 2021;31:1023–1032. https://doi.org/10.1007/s42823-020-00216-z

20. Parfitt GD, Rochester CH. Adsorption from solution at the solid/liquid interface. Academic Press; 1983. 416 p.

21. Fedotkin IM, Koganovskiy AM, Roda IG, Marutovskiy RM. Determining the coefficient of external mass transfer and adsorption from solutions. Physical Chemistry. 1994;48(2):473–475. (In Russ.). [Об определении коэффициента внешнего массообмена и адсорбции из растворов / И. М. Федоткин [и др.] // Физическая химия. 1994. Т. 48. № 2. С. 473–475.].

ISSN 2074-9414 (Print)
ISSN 2313-1748 (Online)

https://doi.org/10.21603/2074-9414-2024-2-2515
https://elibrary.ru/BEJEGN

Оригинальная статья
https://fptt.ru

Изучение некоторых функциональных характеристик ферментативных гидролизатов пищевых белков

С. Н. Лебедева*, Б. А. Болхонов, С. Д. Жамсаранова, Б. А. Баженова, С. Ю. Лескова

Восточно-Сибирский государственный университет технологий и управления, Улан-Удэ, Россия

Поступила в редакцию: 18.12.2023
Принята после рецензирования: 22.01.2024
Принята к публикации: 06.02.2024

**С. Н. Лебедева: lebedeva1959@mail.ru, https://orcid.org/0000-0001-5664-6028*
Б. А. Болхонов: https://orcid.org/0000-0002-1822-4980
С. Д. Жамсаранова: https://orcid.org/0000-0002-0574-1575
Б. А. Баженова: https://orcid.org/0000-0001-7380-5959
С. Ю. Лескова: https://orcid.org/0000-0002-2938-4752

© С. Н. Лебедева, Б. А. Болхонов, С. Д. Жамсаранова, Б. А. Баженова, С. Ю. Лескова, 2024

Аннотация.
Распространенность пищевой аллергии растет во всем мире. Одной из ее причин могут быть белки. Поэтому получение ферментативных гидролизатов белков в качестве гипоаллергенных компонентов пищевых продуктов является актуальным. Целью исследования стала оценка уровня антигенности, сенсибилизирующей активности и антиоксидантных свойств ферментативных гидролизатов яичного и соевого белков.

Сырьем для исследований являлись протеин соевый (изолят) и яичный альбумин. Получение гидролизатов белков проводили с использованием протеаз (пепсин и трипсин) путем двухстадийного процесса. Затем определяли степень гидролиза, суммарную антиоксидантную активность и остаточную антигенность. Сенсибилизирующую способность нативных белков и гидролизатов изучали на модели гиперчувствительности замедленного типа на мышах в внутрикожном тесте опухания лапы.

Путем последовательного внесения пепсина и трипсина получены гидролизаты яичного альбумина и соевого протеина. На основании определения содержания азота (общего, в негидролизованном сырье и гидролизате) рассчитана степень гидролиза белков, которая составила 82–88 %. Суммарная антиоксидантная активность гидролизатов составила 114,3 и 91,4 мг/100 мл соответственно. Остаточная антигенность гидролизатов, определенная методом ИФА, составила $1{,}55\times10^{-4}$ и $3{,}30\times10^{-4}$ отн.ед. Нативные белки обладали высокими аллергизирующими свойствами, увеличивая показатели индекса реакции гиперчувствительности замедленного типа более, чем в 5 раз. Гидролизаты снижали индекса реакции гиперчувствительности замедленного типа в среднем в 3,5 и 2,6 раза соответственно.

Ферментативные гидролизаты яичного альбумина и соевого белка обладали высокой степенью гидролиза и антиоксидантной активностью. Установлена низкая остаточная антигенность (10^{-4}) и невысокая сенсибилизирующая способность. Предполагается, что данные белки могут быть использованы в качестве гипоаллергенного компонента с антиоксидантным действием при разработке пищевых продуктов функционального назначения.

Ключевые слова. Яичный альбумин, соевый протеин, гидролизаты, остаточная антигенная активность, сенсибилизирующая активность, антиоксидантная активность

Финансирование. Исследование выполнено за счет средств гранта Российского научного фонда (РНФ) № 23-26-00058, https://rscf.ru/project/23-26-00058

Для цитирования: Изучение некоторых функциональных характеристик ферментативных гидролизатов пищевых белков / С. Н. Лебедева [и др.] // Техника и технология пищевых производств. 2024. Т. 54. № 2. С. 412–422. https://doi.org/10.21603/2074-9414-2024-2-2515

https://doi.org/10.21603/2074-9414-2024-2-2515
https://elibrary.ru/BEJEGN

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

Functional Profile of Enzymatic Hydrolysates in Food Proteins

Svetlana N. Lebedeva*, Bulat A. Bolkhonov, Sesegma D. Zhamsaranova, Bayana A. Bazhenova, Svetlana Yu. Leskova

East Siberia State University of Technology and Management, Ulan-Ude, Russia

Received: 18.12.2023
Revised: 22.01.2024
Accepted: 06.02.2024

**Svetlana N. Lebedeva: lebedeva1959@mail.ru, https://orcid.org/0000-0001-5664-6028*
Bulat A. Bolkhonov: https://orcid.org/0000-0002-1822-4980
Sesegma D. Zhamsaranova: https://orcid.org/0000-0002-0574-1575
Bayana A. Bazhenova: https://orcid.org/0000-0001-7380-5959
Svetlana Yu. Leskova: https://orcid.org/0000-0002-2938-4752

© S.N. Lebedeva, B.A. Bolkhonov, S.D. Zhamsaranova, B.A. Bazhenova, S.Yu. Leskova, 2024

Abstract.
Food allergy is a matter of global concern, proteins being a popular allergen worldwide. Enzymatic protein hydrolysates serve as hypoallergenic components in functional foods. This article describes enzymatic hydrolysates of egg and soy proteins as potential antigens, sensitizers, and antioxidants.
The research featured soy protein isolate and egg albumin. The protein hydrolysates were obtained in a two-step process with pepsin and trypsin to measure hydrolysis, total antioxidant activity, and residual antigenicity. The sensitizing ability of native proteins and their hydrolysates was studied using a delayed-type hypersensitivity (DTH) skin test of paw swelling in mice.
The egg albumin and soy protein were hydrolyzed by sequentially adding the proteases, i.e., pepsin and trypsin. The degree of protein hydrolysis was calculated against total nitrogen and its contents in non-hydrolyzed raw materials and hydrolysate. It was 82.6% for the egg hydrolysate and 88.3% for the soy hydrolysate, the total antioxidant activity being 114.3 and 91.4 mg/100 mL, respectively. The residual antigenicity of the hydrolysates determined by ELISA in a sandwich version was 1.55×10^{-4} and 3.30×10^{-4} RU, respectively. The native egg and soy proteins demonstrated good allergenic properties, and the DTH response index increased fivefold. The hydrolysates reduced the DTH response indices by an average of 3.5 for egg hydrolysate and 2.6 times for soy hydrolysate.
The resulting enzymatic hydrolysates of egg albumin and soy protein demonstrated a high degree of hydrolysis and antioxidant activity. They had low residual antigenicity (10^{-4}) and low sensitizing ability. The resulting enzymatic hydrolysates could be used as hypoallergenic components and antioxidants in new functional foods.

Keywords. Egg albumin, soy protein, hydrolysates, residual antigenic activity, sensitizing activity, antioxidant activity

Funding. The research was supported by the Russian Science Foundation (RSF), grant no. 23-26-00058, https://rscf.ru/project/23-26-00058

For citation: Lebedeva SN, Bolkhonov BA, Zhamsaranova SD, Bazhenova BA, Leskova SYu. Functional Profile of Enzymatic Hydrolysates in Food Proteins. Food Processing: Techniques and Technology. 2024;54(2):412–422. (In Russ.). https://doi.org/10.21603/2074-9414-2024-2-2515

Введение

За последние десятилетия наблюдается тенденция роста распространенности пищевой аллергии не только в развитых странах, но и в развивающихся. Пищевая аллергия стала одной из главных проблем XXI века. В зону риска пищевой аллергии входят как дети (особенно новорожденные), так взрослые люди. По результатам исследований в среднем в мире пищевая аллергия встречается у 8 % детей и 10 % взрослых [1]. Международным союзом иммунологических обществ разработана современная база аллергенов, куда входит более 400 наименований (https://www.allergen.org).

Пищевую аллергию могут вызывать белки животного и растительного происхождения таких продуктов, как коровье молоко, яйцо, соя, орехи, морепродукты и др. [2, 3]. Популярными и ценными продуктами, богатыми источниками белка и биологически активных компонентов, являются куриные яйца, соя и пищевые

продукты на их основе. Яйцо содержит в среднем 13 % белков, а соя – 40 % [4].

Четыре основных яичных белка, вызывающих аллергию, составляют 80 % белка яиц. Основные аллергены – это овомукоид (Gal d1, 11 %), овальбумин (Gal d2, 54 %), овотрансферрин (Gal d3, 12 %) и лизоцим (Gal d4, 3 %). Белки яичного желтка обладают умеренным аллергенным потенциалом, наиболее высокоаллергенным считается α-ливетин (Gal d5) [2, 5]. Белки сои, такие как Gly m1, глицинин, Gly m4, термостабильный ингибитор трипсина (СИТ), также обладают свойствами сильных аллергенов. Также установлено, что респираторной аллергии на березовую пыльцу (Bet v1) сопутствует перекрестная аллергия на сою [2, 6]. Необходимо учитывать, что очень часто соя является скрытым аллергеном в непищевых и пищевых продуктах, поскольку может содержаться в мясных полуфабрикатах, колбасных и кондитерских изделиях, а также в лекарственных и косметических средствах [2].

Для людей с аллергией на яйцо и сою жизненно важно избегать потребления продуктов питания, содержащих яичные и соевые белки даже в небольших количествах, поскольку это может привести к развитию целого спектра аллергических реакций: крапивницы и отеку Квинке, а в тяжелых случаях к анафилактическому шоку.

Пищевая аллергия является результатом иммунной дисрегуляции и нарушения нормальной пероральной толерантности. Способность белка выступать в роли антигена у генетически предрасположенных индивидов зависит от наличия антигенных структур, способных вызывать специфическую активацию Th2-хелперов и выработку IgE-антител. Этот тип пищевой аллергии является наиболее распространенным [2]. Можно выделить и не-IgE-зависимые аллергические реакции, к которым относятся иммуноглобулин G/иммуноглобулин M (IgG/IgM)-зависимые и Т-зависимые реакции [7].

Лечение пищевой аллергии является трудной и сложной проблемой, которая требует определенных знаний как у врачей, так и у самих пациентов. Например, пациент, страдающий пищевой аллергией, должен постоянно проверять этикетки продуктов с составом их ингредиентов. Производители многих стран, в соответствии со своим законодательством, должны указывать на упаковке продуктов 14 пищевых аллергенов, относящихся к основным [2].

Специалисты отмечают, что единственным полноценным методом, который может быть использован для предотвращения и лечения пищевой аллергии, является отказ от продуктов, содержащих аллергены, что практически невозможно. Однако возможен другой путь – профилактика и использование специализированных диет, которые могут снижать симптомы проявления аллергических реакций и способствовать нормализации общего аллергического фона. Особую значимость приобретают исследования по разработке компонентов и продуктов гипоаллергенной направленности, в которых аллергенное сырье заменено на технологически измененное (гипоаллергенное) [8, 9].

Принцип снижения аллергенности (гипоаллергизация) состоит в блокировании, уменьшении или устранении способности аллергенов вызывать новое проявление сенсибилизации или аллергической реакции у сенсибилизированных людей. С этой целью для обработки пищевых продуктов применяется широкий спектр технологий: термическое воздействие (сухое и влажное), модификации белков, ферментативный гидролиз, сбраживание, воздействие ультразвука, облучения и высокого давления, а также генно-инженерные методы. Проводятся исследования по разработке и исследованию эффективности комбинированных методик [10–12]. Используемые методы обработки пищевых продуктов вызывают целый спектр физико-биохимических изменений белков (разрушение до низкомолекулярных структур, денатурацию, агрегацию и деградацию). Их взаимодействие с другими компонентами пищевого сырья (например, с углеводами, липидами и др.) может привести и к дополнительным модификациям. Таким образом, необходимо осуществить такое воздействие на аллергенные IgE-эпитопы, которое может привести либо к их разрушению, либо модификации или маскировке, и тем самым – к нарушению их способности распознаваться иммуноглобулином Е [7].

Из всех вышеперечисленных технологий ферментативный гидролиз является эффективным и специфическим воздействием на аллергенные белки [13]. В результате данного процесса образуются пептиды различной длины и аминокислоты, обладающие низким аллергенным потенциалом, который обусловлен расщеплением в белковых макромолекулах специфических областей – антигенных детерминант [7]. Для этих целей применяются ферменты животного, растительного и микробного (бактериального и грибкового) происхождения (трипсин, химотрипсин, пепсин, папаин, алкалаза, проназа и др.), а также ферментные препараты (например, «Новозаймс», «Флавозим», «Панкреатин» и др.). Ферменты животного происхождения (пепсин, трипсин, химотрипсин и эластаза поджелудочной железы) эффективно используются для получения пищевых белковых ферментолизатов [14–16].

Гидролиз белков является эффективным методом модификации их функциональных свойств (эмульгирования, вязкости, растворимости, пенообразования и др.). По сравнению с нерасщеплёнными (нативными) белками гидролизаты обладают целым спектром преимуществ: лучше перевариваются, быстрее усваиваются организмом, доступны для питания людей с различными заболеваниями органов пищеварительной системы, имеют более низкую антигенность и обладают широким спектром биологической активности [17, 18].

Выбор протеолитического фермента (или комбинации ферментов) для получения белкового гидролизата зависит от вида целевого продукта, т. е. требуемой степени гидролиза субстрата и условий гидролиза. Могут

быть получены частичные и глубокие гидролизаты. Первые применяются для улучшения функциональных свойств белков, вторые в основном используются в специализированном и лечебном питании. На выбор фермента влияет и структура белкового субстрата. Для снижения антигенности соевого белка используют ферментативный гидролиз в сочетании с различными физико-химическими способами предварительной обработки (термическая обработка при высокой влажности, экструзионная обработка). Также для увеличения степени гидролиза рекомендуется комбинирование нескольких протеаз. В обзоре Е. В. Костылевой и др. отмечается, что при ферментативной обработке соевых бобов наиболее эффективно расщепляли белки до низкомолекулярных пептидов алкалаза, пепсин и папаин [19].

Белки являются предшественниками пептидов, обладающих биологической активностью. Они могут образоваться в организме в процессе пищеварения или при ферментативном расщеплении в результате технологической обработки пищевых продуктов. Они вызывают большой интерес специалистов в области нутрициологии, поскольку обладают целым спектром биологических активностей. В обзорной статье С. Н. Зорина отмечено, что в большинстве работ, касающихся гидролизатов из белков куриного яйца и сои, наибольшее количество упоминаний о наличии у них антиоксидантных, антигипертензивных и иммуномодулирующих свойств [9].

Процессы развития оксидативного стресса и окислительных реакций считаются основной причиной старения и развития дегенеративных заболеваний человека, ухудшения качества продуктов питания. Пептидные антиоксиданты пищевого происхождения имеют широкий спектр источников и высокую активность. Они используются для уменьшения повреждений, вызванных свободными радикалами, смягчения влияния окислительного стресса на организм; а также продления сроков годности продуктов, содержащих липиды, и сохранения их питательных качеств [20]. В настоящее время натуральные антиоксиданты животного и растительного происхождения (гидролизаты белков, пептиды и аминокислоты) активно изучаются. В научной литературе имеются данные о более, чем 100 антиоксидантных пептидов, которые выделены из различных источников, а также получены путем конверсии белков с применением ферментов и/или микроорганизмов [21, 22]. В настоящее время до конца не установлен механизм, с помощью которого пептиды проявляют свои антиоксидантные свойства. Исследованиями установлено, что антиоксидантные пептиды предотвращают окислительные повреждения несколькими путями, к которым относятся: ингибирование свободных радикалов, хелатирование ионов металлов с переменной валентностью, инактивация активных форм кислорода и восстановление гидропероксидов [23, 24]. Пептиды пищевого происхождения, обладающие антиоксидантной активностью, содержат в своей углеродной цепи от 2 до 20 остатков аминокислот, также имеются данные и о более длинных пептидных молекулах [25]. Антиоксидантные свойства таких пептидов связаны с их аминокислотным составом. Часто в них присутствуют такие гидрофобные остатки аминокислот, как лейцин, изолейцин и пролин, а также остатки ароматических аминокислот, например, тирозина [26].

Применение в целях профилактики и лечения окислительных повреждений и связанных с ними патологий биологически активных пептидов с антиоксидантным действием широко изучается. Более 770 пептидных последовательностей с антиоксидантными свойствами зарегистрированы в базе данных BIOPEP [24]. Одной из рекомендацией ВОЗ является увеличение доли потребления пищевых продуктов с антиоксидантными свойствами, так как именно пища является естественным источником этих соединений.

Чтобы быть компонентами для получения гипоаллергенных продуктов гидролизаты должны обладать высокой степенью расщепления белка. Одними из основных характеристик, контролируемых у ферментативных гидролизатов, являются степень гидролиза субстрата и остаточная антигенность – количество нерасщепленного белка, которое сохраняет способность взаимодействовать с антителами. Остаточная антигенность может быть выражена либо в кратности снижения антигенности или быть величиной, обратной кратности снижения. Для определения остаточной антигенности применяют иммуноферментные методы анализа, которые характеризуются высокой чувствительностью, сравнительной дешевизной используемого оборудования и большой производительностью при работе с сериями проб [9].

Частичные гидролизаты, используемые в составе смесей профилактического назначения, содержат пептиды различной длины и минимальное количество свободных аминокислот. Глубокие гидролизаты, являющиеся компонентами продуктов лечебного питания, представлены короткоцепочечными пептидами и аминокислотами. Короткие фрагменты пищевых белков не являются иммуногенными и не обладают аллергенными свойствами. Исключительно смеси аминокислот применяются в тяжелых случаях пищевой аллергии [19].

Исследования авторов С. Д. Жамсарановой и др. посвящены получению ферментолизатов пищевых белков. В частности, с использованием двухстадийного процесса получен ферментативный соевый гидролизат, проведено его гель-фильтрационное хроматографирование, определена антиоксидантная активность полученных трех основных фракций (высоко-, средне- и низкомолекулярной) [27]. Разработаны рабочие параметры получения пептидов яичного белка [28]. Получен гидролизат яичного альбумина с высокой степенью гидролиза и определены его основные функционально-технологические показатели [29]. На основе математических методов планирования эксперимента рассчитаны оптимальные показатели двухстадийного

процесса ферментативной конверсии соевого белка и определена суммарная антиоксидантная активность фракций в процессе гидролиза [30].

Целью настоящего исследования явилась оценка уровня антигенности, сенсибилизирующей активности и антиоксидантных свойств ферментативных гидролизатов яичного и соевого белков.

Объекты и методы исследования

Сырьем для исследований явились протеин соевый – изолят (Китай) и яичный альбумин (Франция). Для проведения гидролиза были использованы протеазы – пепсин («Реахим», Россия) и трипсин («Спофа», Чехия).

Получение гидролизатов яичного альбумина и соевого белка проводили с использованием двухстадийного ферментативного гидролиза ферментами по методике, описанной в предыдущих работах авторов [29, 30].

Органолептические и физико-химические показатели яичного и соевого гидролизатов представлены в таблице 1.

Степень гидролиза (СГ) белка рассчитывали по формуле 1

$$СГ = \frac{(N_{АА} - N_{АА0})}{(N_{ОА} - N_{АА0})} \times 100 \quad (1)$$

где $N_{ОА}$ – содержание общего азота, %; $N_{АА0}$ – содержание азота в негидролизованном сырье, %; $N_{АА}$ – содержание аминного азота в гидролизате в течение некоторого периода времени, %.

Определение концентрации общего азота проводили с реактивом Несслера по ОФС. 1.7.2.0027.15. Метод основан на способности реактива Несслера давать цветную реакцию с ионами аммония, которые образуются после минерализации белковых продуктов.

Содержание аминного азота в негидролизованном сырье и белковом гидролизате определяли методом формольного титрования (метод Серенса) по ОФС.1.2.3.0022.15. Метод заключается в защите формальдегидом свободных аминогрупп (образование оснований Шиффа) и алкалиметрическом титровании эквивалентного количества карбоксильных групп.

Суммарную антиоксидантную активность гидролизатов оценивали на хроматографе Цвет-Яуза-01-АА (НПО «Химавтоматика», 2012) по ГОСТ Р 54037-2010 амперометрическим методом. Массовую концентрацию антиоксидантов рассчитывали по градуировочному графику зависимости выходного сигнала от концентрации кверцетина. Сущность данного метода состоит в измерении силы тока, который возникает при окислении антиоксидантных молекул на поверхности рабочего электрода при определенном потенциале, преобразующегося после усиления в цифровой сигнал.

Остаточная антигенность гидролизатов яичного альбумина и соевого белка была определена с использованием тест-систем Эврика AL0206 и AL0202. В основе работы тест-систем лежит метод иммуноферментного анализа в сэндвич-варианте (ОФС.1.7.2.0033.15). Лунки полистиролового планшета покрыты антителами к яичным белкам/или белкам сои. При добавлении в лунки исследуемых и стандартных растворов соответствующие белки связываются на поверхности планшета. В отсутствии этого белка связывания не происходит. После инкубации при комнатной температуре и промывки буфером в лунки добавляли ферментный конъюгат антител, затем следует повторная инкубация и промывка. После этого в лунки вносили субстрат-хромогенную смесь, в которой развивается цветная реакция. На последнем этапе анализа реакцию останавливали, добавляя в лунки стоп-раствор. С помощью фотометра для иммуноферментного метода анализа измеряли оптическую плотность в лунках планшета, величина которой прямо пропорциональна концентрации соответствующих белков в исследуемых растворах. Оптическую плотность измеряли при длине волны 450 нм на программно-аппаратном комплексе Betty. Остаточную антигенность выражали в относительных единицах к исходному белку.

Сравнительное исследование сенсибилизирующей способности образцов было проведено на экспериментальной модели воспроизведения гиперчувствительности замедленного типа на 50 белых беспородных мышах-самцах массой 18–20 г (согласно Руководству

Таблица 1. Физико-химические показатели яичного и соевого гидролизатов

Table 1. Physical and chemical parameters of egg and soy hydrolysates

Показатель	Характеристика	
	Яичный гидролизат	Соевый гидролизат
Внешний вид	Однородная жидкость	Однородная жидкость
Цвет	Молочный прозрачный	Светло-желтый
Вкус	Без вкуса	Без вкуса
Запах	Без запаха	Без запаха
Содержание сухих веществ, %	2,0 ± 0,1	2,0 ± 0,1
Содержание влаги, %	98,0 ± 0,8	98,0 ± 0,8
Плотность, г/мл	0,999 ± 0,004	0,999 ± 0,004
pH	7,9 ± 0,1	7,8 ± 0,1
Содержание белка, мг/мл	3,85 ± 0,05	4,05 ± 0,05

по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Часть первая, 2012). Экспериментальные группы формировали с учетом в качестве определяющего показателя массы тела мышей (≤ 10 %) методом случайной выборки. Было сформировано 5 групп: 1 группа – контрольная; 2 группа – яичный альбумин; 3 группа – гидролизат яичного альбумина; 4 группа – соевый белок; 5 группа – гидролизат соевого белка.

Внутрикожное введение исследуемых препаратов проводили микрошприцом (в основание хвоста) в дозе 300 мкг (в расчете на белок) в смеси 1:1 с полным адъювантом Фрейнда (ПАФ) в объеме по 0,06 см^3 на животное, однократно. Животным контрольной группы аналогичным образом вводили смесь физиологического раствора и ПАФ.

Сенсибилизацию выявляли на 6-е сутки эксперимента путем постановки провокационной пробы – внутрикожного теста опухания лапы. Сущность метода заключалась во введении в подушечку (под апоневроз) задней коллатеральной лапы животных опытных групп препаратов в дозе по 400 мкг (при объеме 0,04 см^3). Животным контрольной группы в том же объеме вводили физиологический раствор. Учет результатов реакции проводили, рассчитывая разницу результатов измерения толщины тестированной лапы животных опытных и контрольной групп микрометром через 24 ч после введения на месте провокационной пробы с точностью измерения до 10–2 мм. Также дополнительно результаты выраженности реакции гиперчувствительности замедленного типа определяли по массе лап, массе и клеточности подколенных лимфатических узлов.

Рассчитывали индекс реакции (ИР) по формуле 2

$$ИР = \frac{П_{оп.} - П_{к.}}{П_{к.}} \times 100 \qquad (2)$$

где $П_{к.}$ – показатель контрольной лапы (или лимфоузла); $П_{оп.}$ – показатель опытной лапы (или лимфоузла).

Эксперименты на животных были проведены в виварии ФГБОУ ВО «Восточно-Сибирский государственный университет технологий и управления».

Все манипуляции с животными были проведены в соответствии с международными морально-этическими нормами, согласно требованиям «Европейской конвенции по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и других научных целей» (Страсбург, 1986), и Директивой 2010/63/EU Европейского парламента и Совета Европейского союза по охране животных, а также Приказом Минздрава России №199н от 1.04.2016 г. «Об утверждении правил надлежащей лабораторной практики».

Оборудование помещений и организация процедур осуществлены в соответствии с правилами ГОСТ 33215-2014, содержание и уход за животными с ГОСТ 33216-2014.

В период подготовки к эксперименту мыши прошли карантин и адаптацию к обстановке в виварии. При проведении эксперимента осуществляли ежедневное наблюдение за общим состоянием животных, потреблением ими корма и воды.

Мыши были размещены по 10 особей в отдельные клетки соответствующего размера и находились на одинаковом (стандартном) рационе при свободном доступе к пище и воде. Световой режим в условиях вивария был обеспечен сменой освещения «день/ночь» каждые 12 ч. Температура воздуха составляла 20–25 °С, относительная влажность 60–70 %.

Мышей выводили из эксперимента цервикальной дислокацией.

Протокол исследования был одобрен на заседании этической комиссии.

Полученные экспериментальные данные обрабатывали с применением расчета средних значений (M), стандартной ошибки среднего (m) и параметрического критерия оценки (t-критерия Стьюдента). Результаты считали достоверными при достижении уровня значимости различий ($p \leq 0,05$).

Результаты и их обсуждение

Исследуемые пищевые белки (яичный альбумин и соевый протеин) широко используются в качестве ингредиентов при производстве многих продуктов питания.

Применение таких ферментов, как пепсин и трипсин, для проведения процесса гидролиза практически повторяет (моделирует) естественный пищеварительный процесс в организме, что, в свою очередь, позволяет в дальнейшем использовать полученные гидролизаты в составе продуктов питания [31]. Также отмечено, что использование данных протеаз позволяет создавать четко определенные, эффективные и безопасные, пептидные профили [24, 32]. Немаловажным фактором является также доступность данных ферментов на российском рынке.

Одними из основных контролируемых характеристик ферментативных гидролизатов является степень гидролиза субстрата и остаточная антигенность. А среди спектра биологической активности гидролизатов важным показателем является их антиоксидантная активность.

Был проведен анализ степени гидролиза, суммарной антиоксидантной активности и остаточной антигенности яичного и соевого ферментолизатов. Полученные данные представлены в таблицах 2 и 3.

Из данных, представленных в таблице 2, следует, что через 2 ч ферментолиза (2 группа) средняя степень гидролиза составила 46,1 % при максимальной суммарной антиоксидантной активности 170,2 мг/100 мл, а в конце процесса ферментолиза (3 группа) средняя степень гидролиза возросла в 1,8 раза (82,6 %), но показатель суммарной антиоксидантной активности снизился в 1,5 раза (114,3 мг/100 мл). Концентрация антител к яичным белкам через 2 ч ферментолиза снижалась незначительно (в 5,2 раза), остаточная антигенность составила $1,94 \times 10^{-1}$ отн.ед., а после окончания процесса (через 8 ч) – в 6438 раз и остаточная антигенность составила

Таблица 2. Остаточная антигенность, степень гидролиза и суммарная антиоксидантная активность яичного гидролизата (M ± m)

Table 2. Residual antigenicity, degree of hydrolysis, and total antioxidant activity of egg hydrolysate (M ± m)

№ п/п	Наименование образца	Концентрация антител к яичным белкам, мг/л (M ± m)	Остаточная антигенность, отн.ед. (min-max)	Степень гидролиза, %	Суммарная антиоксидантная активность, мг/100 мл
1	Раствор яичного альбумина	$1{,}03 \pm 0{,}10 \times 10^{5}$	1	0	$17{,}8 \pm 1{,}1$
2	Яичный гидролизат через 2 ч гидролиза (промежуточный продукт)	$2{,}00 \pm 0{,}02 \times 10^{4a}$	$1{,}94 \times 10^{-1}$ ($1{,}92–1{,}96 \times 10^{-1}$)	$46{,}1 \pm 2{,}3^{a}$	$170{,}2 \pm 9{,}0^{a}$
3	Яичный гидролизат через 8 ч гидролиза (конечный продукт)	$1{,}60 \pm 0{,}16 \times 10^{a,b}$	$1{,}55 \times 10^{-4}$ ($1{,}40–1{,}71 \times 10^{-4}$)	$82{,}6 \pm 4{,}1^{a,b}$	$114{,}3 \pm 6{,}2^{a,b}$

Примечание: [a] – достоверные отличия относительно 1 экспериментальной группы ($p \le 0{,}01$), [a,b] – достоверные отличия относительно 1 и 2 экспериментальных групп ($p \le 0{,}01$).

Note: [a] – significant differences relative to experimental group 1 ($p \le 0{,}01$), [a,b] – significant differences relative to experimental groups 1 and 2 ($p \le 0{,}01$).

Таблица 3. Остаточная антигенность, степень гидролиза и суммарная антиоксидантная активность соевого гидролизата (M ± m)

Table 3. Residual antigenicity, degree of hydrolysis, and total antioxidant activity of soybean hydrolysate (M ± m)

№ п/п	Наименование образца	Концентрация антител к сое, мг/л (M ± m)	Остаточная антигенность, отн.ед. (min-max)	Степень гидролиза, %	Суммарная антиоксидантная активность, мг/100 мл
1	Раствор соевого альбумина	$0{,}40 \pm 0{,}03 \times 10^{5}$	1	0	$19{,}0 \pm 1{,}3$
2	Соевый гидролизат через 5 ч гидролиза (промежуточный продукт)	$0{,}48 \pm 0{,}04 \times 10^{3a}$	$1{,}20 \times 10^{-2}$ ($1{,}10–1{,}30 \times 10^{-2}$)	$60{,}5 \pm 2{,}7^{a}$	$249{,}4 \pm 12{,}4^{a}$
3	Соевый гидролизат через 8 ч гидролиза (конечный продукт)	$1{,}32 \pm 0{,}07 \times 10^{a,b}$	$3{,}30 \times 10^{-4}$ ($3{,}13–3{,}48 \times 10^{-4}$)	$88{,}3 \pm 4{,}4^{a,b}$	$91{,}4 \pm 4{,}6^{a,b}$

Примечание: [a] – достоверные отличия относительно 1 экспериментальной группы ($p \le 0{,}01$), [a,b] – достоверные отличия относительно 1 и 2 экспериментальных групп ($p \le 0{,}01$).

Note: [a] – significant differences relative to experimental group 1 ($p \le 0{,}01$), [a,b] – significant differences relative to experimental groups 1 and 2 ($p \le 0{,}01$).

$1{,}55 \times 10^{-4}$ отн.ед. Таким образом, в процессе гидролиза яичного альбумина возрастала степень его гидролиза и уменьшались показатели концентрации антител к яичным белкам и остаточная антигенность. Показатель суммарной антиоксидантной активности достигал максимального значения через 2 ч гидролиза.

Из данных, представленных в таблице 3, следует, что через 5 ч ферментолиза (2 группа) степень гидролиза составила 60,5 % при максимальной суммарной антиоксидантной активности 249,4 мг/100 мл, а в конце процесса ферментолиза (3 группа) средняя степень гидролиза возросла в 1,5 раза (88,3 %), но при этом показатель суммарной антиоксидантной активности снизился в 2,7 раза (91,4 мг/100 мл). Концентрация антител к сое через 5 ч процесса ферментолиза снижалась в 83,3 раза и остаточная антигенность составила $1{,}20 \times 10^{-2}$ отн.ед., а после окончания процесса (через 8 ч) – в 3030 раз и остаточная антигенность составила $3{,}30 \times 10^{-4}$ отн.ед. Таким образом, в процессе гидролиза соевого альбумина, аналогично яичному альбумину, возрастала степень его гидролиза и уменьшались показатели концентрации антител к сое и остаточная антигенность. Показатель суммарной антиоксидантной активности достигал максимального значения через 5 ч гидролиза.

Таким образом, несмотря на среднюю степень гидролиза и высокую суммарную антиоксидантную активность у яичного гидролизата через 2 ч, а у соевого – через 5 ч гидролиза концентрация антител к обеим белкам и остаточная антигенность оставались высокими. Только через 8 ч процесса ферментолиза остаточная антигенность составила 10^{-4} отн.ед.

В работах автора С. Н. Зорина с соавторами был получен гидролизат белка куриного яйца сочетанием протеолиза ферментом алкалазой и ультрафильтрации, что позволило снизить исходную антигенность гидролизата в $9{,}9\times10^4$ раз, а при повторной ультрафильтрации – еще в 5 раз [8].

В соответствии с литературными данными показатель остаточной антигенности частичных гидролизатов, используемых в продуктах профилактического назначения, должен составлять $\geq 10^{-3}$ отн.ед., тогда как для глубоких гидролизатов, являющихся компонентом продуктов лечебного питания, –10–6–10^{-4} отн.ед., что в 10^4–10^6 раз меньше, чем у нативных белков [33].

По мнению других авторов, для ферментативных гидролизатов пищевых белков в составе профилактических пищевых продуктов снижение антигенности лежит в пределах 10^{-4}–10^{-5} от исходного белка, что считается средней степенью гидролиза [9].

Несомненно, большой теоретический и практический интерес представляет установленная высокая антиоксидантная активность яичного и соевого гидролизатов. В этой связи, представляет интерес выявление и характеристика пептидов, обуславливающих их антиоксидантную активность. Например, в работе S. Benedé и E. Molina описано, что 3-часовой протеолиз яичного белка с использованием пепсина при соотношении фермент:субстрат 1:100, pH 2 и 37 °C и позволил получить пептидную фракцию с молекулярной массой ниже 3 кДа. Было установлено, что по сравнению с нативным яичным белком данная фракция обладала в 3 раза большей антиоксидантной активностью. Также были идентифицированы четыре пептида овальбумина, антиоксидантная активность которых была обусловлена присутствием тирозина на N-конце [23].

Кроме последовательности аминокислот, на антиоксидантную активность пептидов может также влиять молекулярная масса. Например, M. Akbarian и др. установили, что максимальная антиоксидантная активность гидролизованного белка кукурузного глютена находилась в интервале молекулярных масс от 0,5 до 1,5 кДа. Также было показано, что с дальнейшим увеличением степени гидролиза антиоксидантная активность пептидов уменьшалась. Этот процесс обусловлен дальнейшим расщеплением пептидов до свободных аминокислот, обладающих значительно меньшей антиоксидантной активностью [31].

Исследование испытуемых средств на аллергенность включает в себя аллергодиагностику *in vivo*. Под аллергизирующими свойствами понимают способность того или иного вещества вызывать при введении в организм состояние повышенной чувствительности (гиперчувствительности, сенсибилизации). Поэтому было проведено сравнительное исследование сенсибилизирующей способности яичного альбумина, соевого белка и их гидролизатов на экспериментальной модели гиперчувствительности замедленного типа на белых мышах (табл. 4).

Из данных, представленных в таблице 4, следует, что исследуемые белки – яичный альбумин (2 группа) и соевый белок (4 группа) обладали высокими аллергизи-

Таблица 4. Показатели гиперчувствительности замедленного типа у белых мышей при введении яичного альбумина, соевого белка и их гидролизатов (M ± m, n = 50)

Table 4. Indicators of delayed-type hypersensitivity in white mice administered with egg albumin, soy protein, and their hydrolysates (M ± m, n = 50)

№ гр.	Образец	$ИР_1$ (по объему лапок), M ± m, *t*, *p*	$ИР_2$ (по массе лапок), M ± m, *t*, *p*	$ИР_3$ (по массе лимфоузлов), M ± m, *t*, *p*	$ИР_4$ (по клеточности лимфоузлов), M ± m, *t*, *p*
1	Контроль	+ реакция 20 % 0,49 ± 0,01	+ реакция 100 % 5,14 ± 0,85	+ реакция 100 % 9,64 ± 0,76	+ реакция 100 % 14,46 ± 1,74
2	Яичный альбумин	+ реакция 100 % 4,46 ± 0,57 $t_1 = 6{,}96$; $p_1 \leq 0{,}001$	+ реакция 90 % 22,28 ± 2,96 $t_1 = 5{,}57$; $p_1 \leq 0{,}001$	+ реакция 90 % 53,90 ± 2,62 $t_1 = 16{,}22$; $p_1 \leq 0{,}001$	+ реакция 100 % 46,83 ± 2,51 $t_1 = 10{,}60$; $p_1 \leq 0{,}001$
3	Гидролизат яичного альбумина (конечный продукт)	+ реакция 20 % 0,72 ± 0,01 $t_1 = 16{,}31$; $p_1 \leq 0{,}001$ $t_2 = 6{,}56$; $p_2 \leq 0{,}001$	+ реакция 30 % 6,16 ± 0,54 $t_1 = 1{,}01$; p_1 не дост. $t_2 = 5{,}36$; $p_2 \leq 0{,}001$	+ реакция 70 % 21,25 ± 2,17 $t_1 = 5{,}05$; $p_1 \leq 0{,}001$ $t_2 = 9{,}60$; $p_2 \leq 0{,}001$	+ реакция 100 % 26,60 ± 1,17 $t_1 = 5{,}79$; $p_1 \leq 0{,}001$ $t_2 = 7{,}31$; $p_2 \leq 0{,}001$
4	Соевый белок	+ реакция 100 % 3,27 ± 0,30 $t_1 = 29{,}14$; $p_1 \leq 0{,}001$ $t_2 = 1{,}85$; p_2 не дост.	+ реакция 100 % 18,82 ± 1,86 $t_1 = 6{,}69$; $p_1 \leq 0{,}001$ $t_2 = 0{,}99$; p_2 не дост.	+ реакция 100 % 58,23 ± 1,19 $t_1 = 34{,}41$; $p_1 \leq 0{,}001$ $t_2 = 1{,}50$; p_2 не дост.	+ реакция 100 % 56,76 ± 1,22 $t_1 = 19{,}90$; $p_1 \leq 0{,}001$ $t_2 = 3{,}56$; $p_2 \leq 0{,}01$
5	Гидролизат соевого белка (конечный продукт)	+ реакция 20 % 0,72 ± 0,01 $t_1 = 16{,}31$; $p_1 \leq 0{,}001$ $t_4 = 8{,}50$; $p_4 \leq 0{,}001$	+ реакция 80 % 7,75 ± 0,86 $t_1 = 2{,}16$; p_1 не дост. $t_4 = 5{,}40$; $p_4 \leq 0{,}001$	+ реакция 90 % 24,26 ± 2,24 $t_1 = 6{,}18$; $p_1 \leq 0{,}001$ $t_4 = 13{,}39$; $p_4 \leq 0{,}001$	+ реакция 100 % 28,70 ± 2,20 $t_1 = 5{,}08$; $p_1 \leq 0{,}001$ $t_4 = 11{,}15$; $p_4 \leq 0{,}001$

рующими свойствами (по сравнению с 1 – контрольной группой), так как вызывали индукцию гиперчувствительности замедленного типа у 90–100 % подопытных животных и достоверно увеличивая показатели $ИР_1$–$ИР_4$ (объем и масса лапок, масса и клеточность лимфоузлов) ($p \leq 0{,}001$). Для яичного альбумина увеличение $ИР_{1–4}$ составило 9,1, 4,3, 5,6 и 3,2 раза (в среднем 5,6 раза), для соевого белка – 6,7, 3,7, 6,0 и 3,9 раза (в среднем 5,1 раза) соответственно.

Гидролизаты обоих белков (3 и 5 группы) обладали невысокими аллергизирующими свойствами, хотя $ИР_{1,3,4}$ достоверно превышали контрольные показатели (1 группа) ($p \leq 0{,}001$). Гидролизат яичного альбумина (3 группа) по сравнению с яичным альбумином (2 группа) имел более низкие $ИР_{1–4}$, снижая их в 6,2, 3,6, 2,5 и 1,8 раз (в среднем в 3,5 раза) соответственно. Аналогичная зависимость характерна и для гидролизата соевого белка (5 группа), который, по сравнению с соевым белком (4 группа), снижал $ИР_{1–4}$ в 3,5, 2,4, 2,4 и 2,0 раза (в среднем в 2,6 раза) соответственно.

Таким образом, данные реакции гиперчувствительности замедленного типа свидетельствуют о снижении сенсибилизирующей способности гидролизатов яичного и соевого белков по сравнению с исходными белками.

В настоящее время для снижения аллергенности используется множество методов, в том числе, физических (нагревание, ультразвук, высокое гидростатическое давление, холодная плазма, импульсное электрическое поле и импульсное ультрафиолетовое излучение), химических (связывание полифенолов, гликозилирование) и биологических (ферментация, ферментативное сшивание и ферментативный гидролиз).

В обзоре L. Pang и др. отмечается, что ферментативный гидролиз широко используется для снижения аллергенности пищевых аллергенов и в зависимости от молекулярной массы гидролизата их можно разделить на частично гидролизованные (пептиды < 5 кДа, распределение по размерам: 3–10 кДа) или глубоко гидролизованные (< 3 кДа). Между тем, в качестве пищевого сырья используются гидролизованные белки с низкой аллергенностью, поскольку они обладают отличными технологическими характеристиками и хорошей биологической активностью при производстве различных пищевых продуктов. Однако сам по себе ферментативный гидролиз не может полностью устранить аллергенность, а это означает, что его применение ограничено. Альтернативно, комбинация ферментативного гидролиза и физической или химической обработки повышает эффективность ферментативного гидролиза, поскольку она улучшает ферментативную доступность и позволяет ферменту гидролизовать больше аллергенных эпитопов [34].

В последние десятилетия для снижения иммунореактивности пищевых аллергенов также использовался метод ферментативного сшивания. Как отмечают авторы I. Ahmed и др., это новый нетермический метод, который может служить альтернативой традиционным подходам к обработке пищевого сырья при разработке гипоаллергенных пищевых продуктов благодаря их преимуществам, заключающимся в высокой специфичности и селективности. Ферментативное сшивание с помощью тирозиназы (TYR), лакказы (LAC), пероксидазы (PO) и трансглутаминазы (TG) изменяет структурные и биохимические свойства пищевых аллергенов, что впоследствии вызывает денатурацию или маскирование антигенных эпитопов. LAC, TYR и PO катализируют окисление боковых цепей тирозина, инициируя сшивание белка, тогда как TG инициирует изопептидную связь между остатками лизина и глутамина. Ферментативная обработка дает высокомолекулярный сшитый полимер с пониженной иммунореактивностью и потенциалом связывания IgE. Сшитые аллергены дополнительно ингибируют дегрануляцию тучных клеток из-за более низкого иммуностимулирующего потенциала, что способствует уравновешиванию иммунобаланса Т-хелперов (Th1/Th2) [35].

Процесс ферментации пищевых продуктов различными микроорганизмами, естественным образом присутствующими или добавленными в субстрат в качестве заквасок, также является эффективным методом как для получения пептидов с антиоксидантной активностью, так и для снижения аллергенности многих компонентов пищевых продуктов растительного и животного происхождения. Как отмечают K. E. Mecherfi и др. El ключевым моментом для лучшего понимания протеолитических процессов в ферментированных пищевых продуктах является идентификация образующихся пептидов [36].

Выводы

Рост заболеваемости пищевой аллергией требует разработки эффективных и безопасных терапевтических и пищевых стратегий. В настоящее время широко применяемым методом снижения аллергенности пищевых продуктов, получения гипоаллергенных компонентов для их рецептуры является ферментативный гидролиз.

В результате исследования проведена оценка остаточной антигенности, сенсибилизирующих свойств и суммарной антиоксидантной активности ферментативных гидролизатов яичного альбумина и соевого белка.

Полученные с использованием пепсина и трипсина гидролизаты яичного альбумина и соевого белка характеризовались степенью гидролиза 82–88 %, а суммарная антиоксидантная активность составила 114,3 и 91,4 мг/100 мл соответственно.

Установлено, что гидролизаты яичного альбумина и соевого белка обладали низкой остаточной антигенностью (10^{-4}) и невысокой сенсибилизирующей способностью, что обуславливает снижение их аллергенной активности по сравнению с таковой у нативных белков в среднем в 3–4 раза.

Полноценное питание является основой жизнедеятельности организма человека и важным фактором снижения рисков развития многих заболеваний. Именно

оно обеспечивает активное долголетие и адаптационный потенциал организма. Однако в настоящее время пищевая промышленность не может удовлетворить в полной мере потребность в гипоаллергенных и специализированных продуктах. Предполагается, что полученные ферментативные гидролизаты яичного альбумина и соевого белка могут быть использованы в качестве гипоаллергенного компонента с антиоксидантными свойствами при разработке пищевых продуктов функционального назначения.

Перспективной идеей является создание комплексных гипоаллергенных продуктов питания массового потребления, все компоненты которых были бы гипоаллергенными. Однако большинство исследователей и производителей в настоящее время находятся на стадии разработки алгоритмов создания гипоаллергенных продуктов для их применения в будущем.

Критерии авторства

Авторы в равной степени принимали участие в исследованиях и оформлении рукописи.

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.

References/Список литературы

1. Sampath V, Abrams EM, Adlou B, Akdis C, Akdis M, Brough H, *et al.* Food Allergy Across the Globe. Journal of Allergy and Clinical Immunology. 2021;148(6):1347–1364. https://doi.org/10.1016/j.jaci.2021.10.018

2. Revyakina VA. The Problem of Food Allergies at the Present Stage. Problems of Nutrition. 2020;89(4):186–192. (In Russ.). https://doi.org/10.24411/0042-8833-2020-10052; https://www.elibrary.ru/IAVQHX

3. Chittoor RI, Saraswathi HTB. A Review of Naturally Occuring Food Allergens and Their Impact on Health. Biosciences Biotechnology Research Asia. 2022;19(1):13–35. https://doi.org/10.13005/bbra/2965

4. Dolganyuk V, Sukhikh S, Kalashnikova O, Ivanova S, Kashirskikh E, Prosekov A, *et al*. Food Proteins: Potential Resources. Sustainability. 2023;15(7):5863. https://doi.org/10.3390/su15075863

5. Fedotova MM, Fedorova OS, Konovalova UV, Kamaltynova EM, Nagaeva TA Ogorodova LM. Hen's Egg Allergy: An Update. Bulletin of Siberian Medicine. 2018;17(2):156–166. https://doi.org/10.20538/1682-0363-2018-2-156-166; https://www.elibrary.ru/UTINVZ

6. Monaci L, Pilolli R, de Angelis E, Crespo JF, Novak N, Cabanillas B. Food Allergens: Classification, Molecular Properties, Characterization, and Detection in Food Sources. Advances in Food and Nutrition Research. 2020;93:113–146. https://doi.org/10.1016/bs.afnr.2020.03.001

7. Gromov DA, Borisova AV, Bakharev VV. Food Allergens and Methods for Producing Hypoallergenic Foods. Food Processing: Techniques and Technology. 2021;51(2):232–247. (In Russ.). https://doi.org/10.21603/2074-9414-2021-2-232-247; https://elibrary.ru/MHOLPD

8. Zorin SN, Sidorova YuS, Mazo VK. Enzymatic Hydrolysates of Whey Protein and Chicken Egg Ppotein: Production, Physical-Chemical and Immunochemical Characteristics. Problems of Nutrition. 2020;89(1):64–68. (In Russ.). https://doi.org/10.24411/0042-8833-2020-10007; https://elibrary.ru/EYXSNG

9. Zorin SN. Enzymatic Hydrolysates of Food Proteins for Specialized Foods for Therapeutic and Prophylactic Nutrition. Problems of Nutrition. 2019;88(3):23–31. (In Russ.). https://doi.org/10.24411/0042-8833-2019-10026; https://elibrary.ru/JMLHXW

10. Clare Mills EN, Sancho AI, Rigby NM, Jenkins JA, Mackie AR. Impact of Food Processing on the Structural and Allergenic Properties of Food Allergens. Molecular Nutrition and Food Research. 2009;53(8):963–969. https://doi.org/10.1002/mnfr.200800236

11. Mahler V, Goodman RE. Definition and Design of Hypoallergenic Foods. In: Kleine-Tebbe J, Jakob T, editors. Molecular Allergy Diagnostics. Innovation for a Better Patient Management. Cham: Springer; 2017. pp. 487–511. https://doi.org/10.1007/978-3-319-42499-6_27

12. Verhoeckx KCM, Vissers YM, Baumert JL, Faludi R, Feys M, Flanagan S, *et al*. Food Processing and Allergenicity. Food and Chemical Toxicology. 2015;80:223–240. https://doi.org/10.1016/j.fct.2015.03.005

13. 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

14. Rahaman T, Vasiljevic T, Ramchandran L. Effect of Processing on Conformational Changes of Food Proteins Related to Allergenicity. Trends in Food Science and Technology. 2016;49:24–34. https://doi.org/10.1016/j.tifs.2016.01.001

15. Andjelkovic U. Food Allergy and Food Allergens. In: Cifuentes A, editor. Comprehensive Foodomics. Elsevier; 2021. pp. 154–174. https://doi.org/10.1016/B978-0-08-100596-5.22844-8

16. Semenova ES, Simonenko ES, Simonenko SV, Zorin SN, Petrov NA, Mazo VK. Study of the Process of Hydrolysis of Milk Proteins Using Enzyme Preparations of Domestic and Production. Food Systems. 2023;6(2):224–232. (In Russ.). https://doi.org/10.21323/2618-9771-2023-6-2-224-232; https://elibrary.ru/VQTKGN

17. Sviridenko YuYa, Myagkonosov DS, Abramov DV, Ovchinnikova EG. Theoretical and Practical Aspects of Development Technology of Manufacturing Protein Hydrolyzates for Special Nutrition Use. Part 1. Technology of Production and Technical Characteristics of Hydrolysates. Food Industry. 2017;(5):48–51. (In Russ.). [Свириденко Ю.Я., Мягконосов Д.С., Абрамов Д.В., Овчинникова Е. Г. Научно-методические подходы к развитию технологии белковых гидролизатов для специального питания. Ч. 1. Технология производства и технические характеристики гидролизатов // Пищевая промышленность. 2017. № 5. С. 48–51.] https://elibrary.ru/YPIXGD

18. Sviridenko YuYa, Myagkonosov DS, Abramov DV, Ovchinnikova EG, Simonenko SV, Antipova TA. Technological Methods for Improving the Functional Properties of Hydrolysates for Specialized and Infant Nutrition. Food Industry. 2020; (10):12–17. (In Russ.). https://doi.org/10.24411/0235-2486-2020-10113; https://elibrary.ru/MXLHHE

19. Kostyleva EV, Sereda AS, Velikoretskaya IA, Kurbatova EI, Tsurikova NV. Proteases For Obtaining of Food Protein Hydrolysates from Proteinaceous By-Products. Problems of Nutrition. 2023;92(1):116–132. (In Russ.). https://doi.org/10.33029/0042-8833-2023-92-1-116-132; https://elibrary.ru/PUGROG

20. Pan M, Liu K, Yang J, Liu S, Wang S, Wang S. Advances on Food-Derived Peptidic Antioxidants – A Review. Antioxidants. 2020;9(9):799. https://doi.org/10.3390/antiox9090799

21. Dziuba M, Darewicz M. Food Proteins as Precursors of Bioactive Peptides – Classification into Families. Food Science and Technology International. 2007;13(6):393–404. https://doi.org/10.1177/1082013208085933

22. Sarmadi BH, Ismail A. Antioxidative Peptides from Food Proteins: A Review. Peptides. 2010;31(10):1949–1956. https://doi.org/10.1016/j.peptides.2010.06.020

23. Benedé S, Molina E. Chicken Egg Proteins and Derived Peptides with Antioxidant Properties. Foods. 2020;9(6):735. https://doi.org/10.3390/foods9060735

24. López-García G, Dublan-García O, Arizmendi-Cotero D, González-Olivan LM. Antioxidant and Antimicrobial Peptides Derived from Food Proteins. Molecules. 2022;27(4):1343. https://doi.org/10.3390/molecules27041343

25. Du Z, Li Y. Review and Perspective on Bioactive Peptides: A Roadmap for Research, Development, and Future Opportunities. Journal of Agriculture and Food Research. 2022;9:100353. https://doi.org/10.1016/j.jafr.2022.100353

26. Wong F-C, Xiao J, Wang S, Ee K-Y, Chai T-T. Advances on the Antioxidant Peptides from Edible Plant Sources. Trends in Food Science and Technology. 2020;99:44–57. https://doi.org/10.1016/j.tifs.2020.02.012

27. Zhamsaranova SD, Lebedeva SN, Bolkhonov BA, Sokolov DV. Enzymatic Food Protein Conversion and Assessment of Antioxidant Activity of Peptides. ESSUTM Bulletin. 2021;(4):5–14. (In Russ.). https://doi.org/10.53980/24131997_2021_4_5; https://elibrary.ru/TNSCKR

28. Bolkhonov BA, Sokolov DV, Zhamsaranova SD, Lebedeva SN, Qian Ch. Selection of Working Parameters for the Production of Egg Protein Peptides. ESSUTM Bulletin. 2022;(4):15–23. (In Russ.). https://doi.org/10.53980/24131997_2022_4_15; https://elibrary.ru/UICXSZ

29. Zhamsaranova SD, Lebedeva SN, Bolkhonov BA, Sokolov DV, Bazhenova BA. Hydrolysate of Ovalbumin: Production and Evaluation of the Functional Properties of Peptides. Theory and Practice of Meat Processing. 2023;8(1):34–42. https://doi.org/10.21323/2414-438X-2023-8-1-34-42; https://elibrary.ru/EQUMSB

30. Sokolov DV, Bolkhonov BA, Zhamsaranova SD, Lebedeva SN, Bazhenova BA. Enzymatic Hydrolysis of Soy Protein. Food Processing: Techniques and Technology. 2023;53(1):86–96. https://doi.org/10.21603/2074-9414-2023-1-2418; https://elibrary.ru/DHXSAX

31. Akbarian M, Khani A, Eghbalpour S, Uversky VN. Bioactive Peptides: Synthesis, Sources, Applications, and Proposed Mechanisms of Action. International Journal of Molecular Sciences. 2022;23(3):1445. https://doi.org/10.3390/ijms23031445

32. Manzoor M, Singh J, Gani A. Exploration of Bioactive Peptides from Various Origin as Promising Nutraceutical Treasures: *In Vitro*, *In Silico* and *In Vivo* Studies. Food Chemistry. 2021;373:131395. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.131395

33. Aider M. Potential Applications of Ficin in The Production of Traditional Cheeses and Protein Hydrolysates. JDS Communications. 2021;2(5):233–237. https://doi.org/10.3168/jdsc.2020-0073

34. Pang L, Liu M, Li X, Guo L, Man C, Yang X, *et al.* Effect of Enzymatic Hydrolysis Combined with Processing on Allergenicity of Food Allergens. Trends in Food Science and Technology. 2024;143:104248 https://doi.org/10.1016/j.tifs.2023.104248

35. Ahmed I, Chen H, Li J, Wang B, Li Z, Huang G. Enzymatic Crosslinking and Food Allergenicity: A Comprehensive Review. Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety. 2021;20(6):5856–5879. https://doi.org/10.1111/1541-4337.12855

36. El Mecherfi K-E, Todorov SD, de Albuquerque MAC, Denery-Papini S, Lupi R, Haertlé T, *et al.* Allergenicity of Fermented Foods: Emphasis on Seeds Protein-Based Products. Foods. 2020;9(6):792. https://doi.org/10.3390/foods9060792

ISSN 2074-9414 (Print)
ISSN 2313-1748 (Online)

https://doi.org/10.21603/2074-9414-2024-2-2517
https://elibrary.ru/QGDAJQ

Обзорная статья
https://fptt.ru

Биоактивные вещества геропротекторной направленности

А. Д. Фокина[1,*], А. Д. Веснина[1], А. С. Фролова[1], Д. Ю. Чекушкина[1], Л. А. Проскурякова[1], Л. М. Аксенова[2]

[1] *Кемеровский государственный университет, Кемерово, Россия*

[2] *Всероссийский научно-исследовательский институт кондитерской промышленности, Москва, Россия*

Поступила в редакцию: 02.04.2024
Принята после рецензирования: 24.05.2024
Принята к публикации: 04.06.2024

**А. Д. Фокина: fadan-2001@mail.ru,*
https://orcid.org/0009-0006-9566-170X
А. Д. Веснина: https://orcid.org/0000-0002-4552-7418
А. С. Фролова: https://orcid.org/0000-0003-3988-8521
Д. Ю. Чекушкина: https://orcid.org/0009-0002-3826-8048
Л. А. Проскурякова: https://orcid.org/0000-0002-9583-9161

© А. Д. Фокина, А. Д. Веснина, А. С. Фролова, Д. Ю. Чекушкина, Л. А. Проскурякова, Л. М. Аксенова, 2024

Аннотация.
Организм человека постоянно подвергается влиянию ряда факторов окружающей среды, которые негативно воздействуют на его состояние и здоровье. Данное влияние в совокупности с наследственными особенностями приводит к геронтологическим изменениям, ухудшающим здоровье и сокращающим трудоспособную продолжительность жизни. В связи с этим актуальны мероприятия, направленные на предупреждение преждевременного старения организма. Например, через соблюдение рационального питания и систематического приема биологически активных добавок с геропротекторным потенциалом. Цель данной работы – рассмотрение и изучение БАВ с геропротекторным потенциалом для выбора перспективных компонентов для последующей разработки на их основе биологически активных добавок и функциональных продуктов питания.
Объектами исследования являлись отечественная научная литература и данные патентного поиска, посвященные БАВ-геропротекторам. В обзор включили источники из электронных баз данных National Center for Biotechnology Information, ScienceDirect и eLIBRARY.RU; патентный поиск осуществлялся через базу данных Федерального института промышленной собственности. Глубина поиска составила 5 лет, язык – русский и английский.
В результате проведенного обзора научной информации установлено, что на российском рынке растет спрос на биологически активные добавки (в 2023 г. рынок увеличился на 10 % в стоимостном выражении). Рассмотрели критерии, которым должны соответствовать БАВ-геропротекторы. Перспективными БАВ-геропротекторами являются растительные метаболиты: витамины, полифенолы и прочие антиоксиданты, адаптогенны, пептиды и т. д. На отечественном рынке имеются следующие лекарственные гериатрические средства: тималин, эпиталамин, дазатиниб и эпиталон.
Потенциальными геропротекторами являются этиламин, карнозин, глутатион, убихинон, куркумин, рутин, кверцетин, ресвератрол и прочие сенолитики и сирутины. Данные БАВ нацелены на профилактику окислительного стресса и накопление сенесцентных клеток. В качестве геропротекторов можно эффективно использовать богатые выше представленными БАВ растения – это *Vitis amurensis*, *Rhodiola rosea*, *Schisandra chinensis*, *Galega officinalis*, *Eleutherococcus senticosus*, *Withania somnifera* и *Panax ginseng*.

Ключевые слова. Геропротекторы, биологически активные вещества, антиоксиданты, старение, сенолитики, адаптогены, растительные метаболиты

Финансирование. Работа выполнена в рамках государственного задания по теме «Разработка биологически активных добавок, состоящих из метаболитов растительных объектов *in vitro*, для защиты населения от преждевременного старения» (проект FZSR-2024-0008) с использованием оборудования ЦКП «Инструментальные методы анализа в области прикладной биотехнологии» на базе Кемеровского государственного университета (КемГУ).

Для цитирования: Биоактивные вещества геропротекторной направленности / А. Д. Фокина [и др.] // Техника и технология пищевых производств. 2024. Т. 54. № 2. С. 423–435. https://doi.org/10.21603/2074-9414-2024-2-2517

https://doi.org/10.21603/2074-9414-2024-2-2517
https://elibrary.ru/QGDAJQ

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

Bioactive Anti-Aging Substances: Geroprotectors

Anna D. Fokina[1,*], Anna D. Vesnina[1], Anna S. Frolova[1], Darya Yu. Chekushkina[1], Larisa A. Proskuryakova[1], Larisa M. Aksenova[2]

[1] *Kemerovo State University, Kemerovo, Russia*

[2] *All-Russian Scientific Research Institute of Confectionery Industry, Moscow, Russia*

Received: 02.04.2024
Revised: 24.05.2024
Accepted: 04.06.2024

**Anna D. Fokina: fadan-2001@mail.ru, https://orcid.org/0009-0006-9566-170X*
Anna D. Vesnina: https://orcid.org/0000-0002-4552-7418
Anna S. Frolova: https://orcid.org/0000-0003-3988-8521
Darya Yu. Chekushkina: https://orcid.org/0009-0002-3826-8048
Larisa A. Proskuryakova: https://orcid.org/0000-0002-9583-9161

© A.D. Fokina, A.D. Vesnina, A.S. Frolova, D.Yu. Chekushkina, L.A. Proskuryakova, L.M. Aksenova, 2024

Abstract.
People are constantly exposed to adverse environmental factors that affect their health. If combined with hereditary predisposition, they may lead to gerontological changes that reduce healthy and working life expectancy. Some measures can prevent premature aging, e.g., a balanced diet or biologically active anti-aging substances also called geroprotectors. This article reviews biologically active geroprotectors with a view to select promising components for novel biologically active additives and functional foods.

The review covered five years of Russian research articles and patents on biologically active anti-aging agents indexed in the National Center for Biotechnology Information, ScienceDirect, eLIBRARY.RU, and the database of the Federal Institute of Industrial Property.

The domestic market demonstrates a growing demand for biologically active supplements: in 2023, it increased by 10% in value terms as consumers' interest in a healthy and long life continues to grow. The review also included quality criteria for biologically active anti-ageing agents, e.g., such plant metabolites as vitamins, polyphenols, antioxidants, adaptogens, peptides, etc. Thymalin, epithalamin, dasatinib, and epithalon are available on the domestic market.

The list of potential anti-aging agents includes ethylamine, carnosine, glutathione, ubiquinone, curcumin, rutin, quercetin, resveratrol, senolytics, and sirutins. These biologically active substances prevent oxidative stress, accumulation of lipofuscin, and senescent cells. The most effective anti-aging agents come from Vitis amurensis, Rhodiola rosea, Schisandra chinensis, Galega officinalis, Eleutherococcus senticosus, Withania somnifera, and Panax ginseng.

Keywords. Geroprotectors, biologically active substances, antioxidants, aging, senolytics, adaptogens, plant metabolites

Funding. The research was part of State Assignment FZSR-2024-0008: Biologically active anti-ageing additives with plant metabolites: in vitro studies. It was conducted on the premises of the Shared-Use Center for Biotechnology, Kemerovo State University (KemSU).

For citation: Fokina AD, Vesnina AD, Frolova AS, Chekushkina DYu, Proskuryakova LA, Aksenova LM. Bioactive Anti-Aging Substances: Geroprotectors. Food Processing: Techniques and Technology. 2024;54(2):423–435. (In Russ.). https://doi.org/10.21603/2074-9414-2024-2-2517

Введение

Несмотря на увеличение общей продолжительности жизни, проблемы преждевременного старения и смертности населения не теряют актуальности. Согласно прогнозам ООН население в мире достигнет отметки 8,5 млрд человек к 2030 г., 9,7 млрд к 2050 г. и 10,4 млрд к 2100 г. К 2050 г. ожидается прирост доли мирового населения до 16 % в возрасте от 65 лет и старше. Для сравнения в 2022 г. доля прироста составила 10 % [1, 2]. По данным научной литературы, для более 10 % людей среднего возраста характерны функциональные признаки, относящиеся к людям старших возрастных групп (рис. 1) [3]. Причины преждевременного старения организма разнообразны: воспалительные реакции, окислительный стресс, снижение иммунитета, ухудшение работы сердечно-сосудистой системы, хрупкость и ослабление когнитивных и прочих функций [4, 5].



Рисунок 1. Типы старения и характерные признаки проявления преждевременного старения [6]

Figure 1. Types of aging and signs of premature aging [6]

Увеличение продолжительности жизни, сохранение и поддержание здоровья населения, сокращение уровня смертности – это важные задачи современной медицины, а также главные задачи в рамках проекта от Министерства Здравоохранения России до 2023 г. «Укрепление общественного здоровья» [7]. Ведение нездорового образа жизни, отсутствие физической активности, нарушение питания и баланса режима работы и отдыха, вредные привычки и неблагоприятная экологическая обстановка влияют на состояние организма, уровень стресса, физическое и эмоциональное здоровье, приводя к преждевременному изнашиванию организма, развитию хронических заболеваний и преждевременному старению [6, 8].

Правильное (рациональное, сбалансированное) питание является эффективным профилактическим средством, предотвращающим развитие ряда хронических заболеваний, которые влияют на возникновение преждевременного старения организма [8–10]. Следовательно, актуальными являются работы, направленные на разработку функциональных продуктов питания и биологически активных добавок, в состав которых входят биологически активные вещества – геропротекторы (гериатрические средства) [6, 8].

Растительное сырье, содержащее БАВ-геропротекторы, является перспективным и востребованным источником для получения эффективных и безопасных препаратов для профилактики сердечно-сосудистых, онкологических и кожных заболеваний, а также заболеваний, замедляющих процессы преждевременного изнашивания, хрупкости и прочих процессов старения организма [6]. Изучение индивидуальных БАВ и поиск новых источников биологически активных соединений является актуальной задачей для ученых-исследователей во всем мире [6, 9].

Цель работы заключалась в изучении и установлении перспективных БАВ-кандидатов в геропротекторы для производства на их основе биологически активных добавок и/или функциональных продуктов питания.

Объекты и методы исследования

Объектами исследования стали научные публикации, посвященные биологически активным добавкам, функциональным продуктам питания с геропротекторным потенциалом и биологически активным веществам, входящим в их состав и предупреждающим преждевременное старение организма, а также изобретения, описывающие разработку геропротекторов.

В обзор включили источники из электронных баз данных National Center for Biotechnology Information (в частности PubMed), ScienceDirect и научной электронной библиотеки eLIBRARY.RU. Провели патентный поиск через базу данных Федерального института промышленной собственности (ФИПС). Поиск осуществлялся на русском и английском языках, глубина поиска составила 5 лет. Ключевые слова поиска: геропротекторы, старение, антиоксиданты, адаптогены, сенолитики, регуляторы сигнальных путей, бигуаниды, сиртуины, флавоноиды, растительное сырье, антиоксидантная активность, окислительный стресс, продолжительность жизни, стрессовые факторы, профилактика заболеваний, препараты-геропротекторы. В найденных публикациях мы также изучали библиографический список.

Результаты и их обсуждение

Старение – это естественный биологический процесс, представляющий собой функциональные изменения на всех уровнях организации жизни организма (молекулярном, клеточном, физиологическом и т. д.), которые могут иметь как генетический, так и приобретенный характер [6, 10–14]. Существует большое количество различных теорий старения организма, в которых описываются различные механизмы старения. Например, митохондриальная теория, в основе которой лежит прогрессивная потеря функции митохондрий в различных тканях организма, теломерная – укорачивание теломер, свободнорадикальная – накопление повреждений клеток, вызванных свободными формами кислорода, и прочие теории [8, 11]. Важный

вклад в развитии старения играет свободнорадикальная теория. Основной причиной образования свободных радикалов в организме является неблагоприятная экологическая обстановка (загазация воздушного пространства, ультрафиолетовое облучение, угольная пыль) и вредные привычки, которые наносят вред человеческому организму: ведение нездорового образа жизни и курение. Образование в организме окисления свободными радикалами увеличивается с возрастом, что ведет к ухудшению самочувствия, развитию патологий и различных заболеваний сердечно-сосудистой системы, нарушению обмена веществ и ожирению, появлению злокачественных и доброкачественных новообразований, развитию сахарного диабета [12, 15].

Для профилактики преждевременного старения и воздействия на различные механизмы старения используют такой класс лекарственных соединений, как геропротекторы [6, 16].

Отечественный рынок биологически активных добавок геропротекторной направленности предлагает широкий спектр продуктов, которые разработаны с учетом потребностей и особенностей российских потребителей [17]. Важным аспектом анализа рынка биологически активных добавок геропротекторной направленности является изучение спроса на такие продукты. Согласно мнению руководителя совета по развитию системы здравоохранения координационного совета негосударственной сферы безопасности А. Макаевой потребители все больше обращают внимание на здоровье и долголетие. Ухудшение здоровья населения и поиск «волшебной» таблетки от всех болезней повышает интерес потребителей и популяризацию биологически активных добавок как эффективных профилактических средств разнонаправленного действия. С повышением интереса у населения на продукцию биологически активных добавок фармацевтического рынка увеличиваются спрос и предложение. Таким образом, в 2023 г. отмечалось расширение рынка биологически активных добавок на 10 % в год в стоимостном выражении, а прирост новых потребителей увеличился на 5 %, что спровоцировало повышение спроса на продукцию биологически активных добавок на 25 %. Это связано с тем, что все больше людей в России воспринимают биологически активные добавки как элемент культуры здоровьесбережения [18].

Предотвращение раннего старения организма является одной из ведущих задач современной медицины. Население стремится сохранить свою активность и улучшить качество жизни. Поэтому спрос на геропротекторные биологически активные добавки растет с каждым годом [6, 18].

Российские производители биологически активных добавок геропротекторной направленности разрабатывают продукты, которые включают в себя природные биоактивные вещества, способствующие замедлению процессов старения. Они учитывают национальные особенности и потребности потребителей, предлагая производство продуктов на основе запатентованных технологий и с соблюдением высоких стандартов качества [17–19].

Отечественный рынок биологически активных добавок геропротекторной направленности имеет большой потенциал для развития. С ростом заинтересованности потребителей в здоровье и долголетии спрос на такие продукты будет только увеличиваться.

В работе А. Москалева и его коллег были представлены следующие основные критерии потенциальных геропротекторов. Данные химические вещества должны
– увеличивать продолжительность жизни за счет воздействия на биомаркеры старения;
– улучшать физическое, психическое, эмоциональное и социальное функционирование;
– проявлять минимальные побочные эффекты при терапевтической дозировке;
– проявлять широкий спектр терапевтического действия;
– повышать устойчивость организма к неблагоприятным факторам внешней среды;
– не вызывать привыкания/лекарственной зависимости [20].

По происхождению геропротекторы разделяются на синтетические (компоненты синтезированы в лабораторных условиях, например, витамины, антибиотики и препараты на основе химических веществ) и природного происхождения (например, метаболиты растений, микроорганизмов и т. п.).

К природным биоактивным веществам-геропротекторам относятся антиоксиданты, сенолитики и др. (рис. 2) [10, 21].



Рисунок 2. Группы геропротекторов растительного состава

Figure 2. Classification of anti-aging agents of plant origin

К антиоксидантам относят жирорастворимые витамины А и Е, витамин С, бета-каротин, селен, синтетические антиоксиданты направленного действия (фенолы и их производные) (рис. 3). Антиоксиданты способствуют нейтрализации свободных радикалов в процессе окислительного стресса, что способствует предотвращению процесса старения организма [10, 22].

В медицинской литературе известны случаи увеличения продолжительности жизни после длительного применения таких препаратов, как тималин и эпиталамин, разработанных на основе животного сырья. Тималин – комплекс пептидов, выделенный из тимуса (прошел проверку и был одобрен Минздравом СССР № 1008 от 10.11.1982 г. (номер регистрации № 82.1008.8)), обладает антиатеросклеротическим и противоопухолевым действием. По результатам практического тестирования препарата у пациентов с нарушением гомеостаза с интервалом в шесть месяцев отмечалось целостное улучшение состояния, выработался иммунный ответ на респираторные и вирусные заболевания, обеспечилось предотвращение преждевременного старения. Препарат тималин, назначаемый как для лиц старше шестидесяти лет, так и для онкобольных пациентов, проявил себя как перспективное геропротекторное средство [19]. Применение эпиталамина в качестве биологически активной добавки способствовало нормализации уровня мелатонина и глюкозы в крови, функции репродуктивной защиты, повышению антиоксидантной и антирадикальной защиты, снижению действия окислительного стресса. Кроме этого, отмечался положительный гипогликемический эффект, поднятие клеточного иммунитета и восстановление фагоцитоза, сокращение онкологических рецидивов и возникновения метастаз. Эпиталамин – комплекс пептидов, выделенный из эпифиза мозга (прошел проверку и был одобрен Минздравом СССР № 250 от 19.06.1990 г. (номер регистрации № 90.250.1)) [19].

С возрастом у людей естественным образом снижается уровень антиоксидантной и антирадикальной клеточной защиты, что становится причиной преждевременного старения. Для предупреждения процесса преждевременного старения используют БАВ групп антиоксидантов (рис. 4).

Этиламин способствует нормализации уровня естественного мелатонина в организме. Но с возрастом выработка естественного мелатонина сокращается, что ведет к ускорению процесса старения, возникновению болезни Альцгеймера и артериальным нарушениям. В источниках отмечается, что мелатонин сам по себе обладает геропротекторным потенциалом. Мелатонин как антиоксидант замедляет перекисное окисление липидов, подавляет карбонилированные формы белков и предотвращает гибель клеток [20].

Карнозин относится к группе геропротекторного действия – антиоксидантам, которые способствуют замедлению процесса старения, омоложению клеток и организма изнутри (рис. 4b). Действие карнозина снижает укорачивание теломер при каждом делении клетки [18].

Другим представителем группы антиоксидантов геропротеторной направленности является глутатион, который предотвращает процесс апоптоза клеток, защищает клетки от свободных радикалов с помощью тиоловой кислоты (рис. 4c).

Убихинон зарекомендовал себя как препарат, назначающийся для профилактики и поднятия уровня энергии в таких областях медицины, как кардиология, эндокринология, нефрология (Кудесан) и косметология (Кутен). Коэнзим Q_{10} (убихинон) – антиоксидант геропротекторного действия, который участвует в процессе естественного образования АТФ в организме; из-за погло-

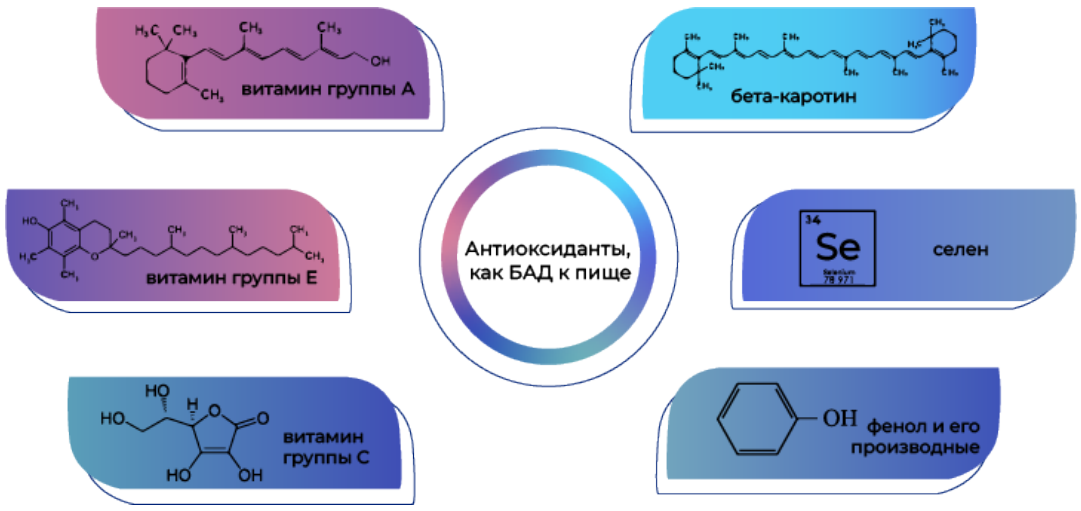


Рисунок 3. Антиоксиданты, используемые как биологически активная добавка к пище

Figure 3. Antioxidants used as dietary supplement

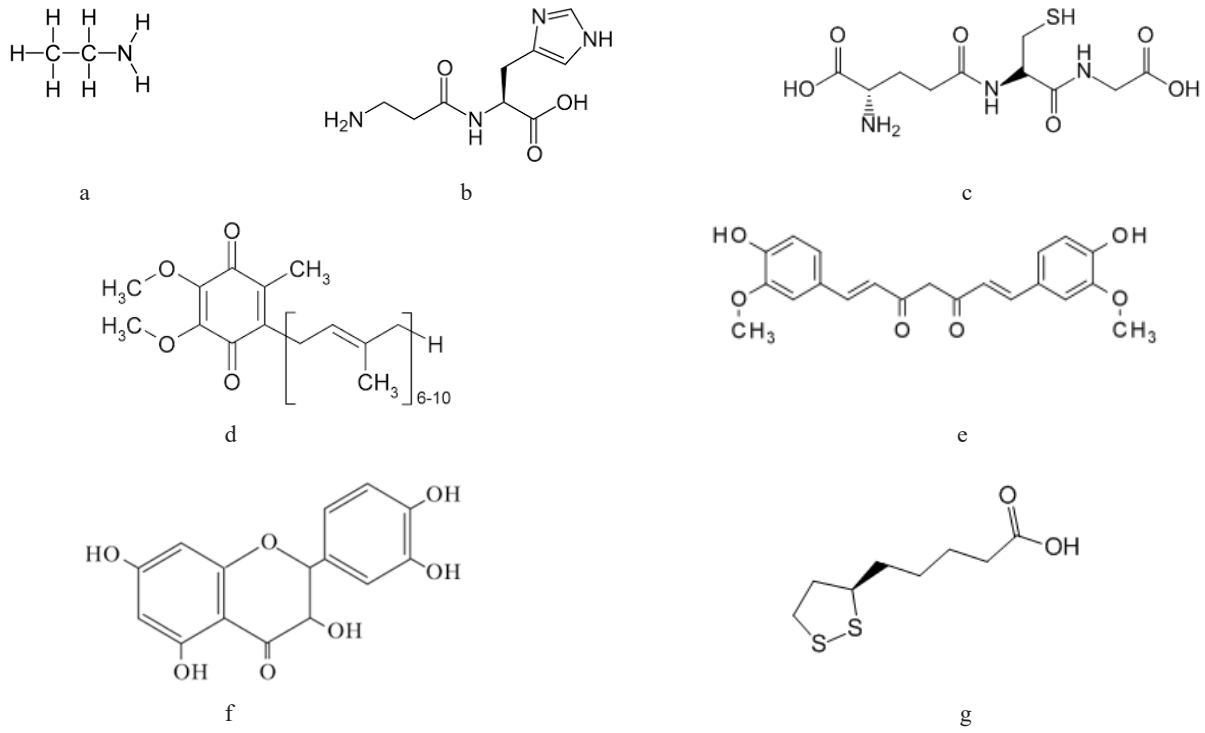


Рисунок 4. Структурные формулы БАВ геропротекторного действия группы антиоксидантов: a – этиламин, b – карнозин, c – глутатион, d – убихинон (коэнзим Q_{10}), e – куркумин, f – рутин, g – альфа-липоевая кислота

Figure 4. Biologically active anti-aging antioxidants: a – ethylamine, b – carnosine, c – glutathione, d – ubiquinone (coenzyme Q_{10}), e – curcumin, f – rutin, g – alpha-lipoic acid

щения кислорода выделяется энергия (рис. 4d) [23]. Коэнзим Q_{10} участвует в процессе клеточного дыхания. При дефиците убихинона в организме, т. е. при дефиците энергии, значительно ухудшается состояние сердечно-сосудистой системы, что ведет к брадикардии [23, 24].

Наряду с коэнзимом Q_{10}, в качестве антиоксиданта возрос интерес к куркумину – природному веществу, которое получают из корня куркумы [25–27]. Куркумин препятствует повреждению клеток, вызванному свободными радикалами, способствует замедлению процессов старения и предотвращению возникновения возрастных заболеваний, снижает уровень воспаления в организме, обладает иммуномодулирующим действием, благоприятно влияет на поддержание здоровья сердца и сосудов (рис. 4e) [28]. Исследования показали, что куркумин может быть полезным в профилактике и лечении таких заболеваний, как атеросклероз, сахарный диабет, артрит, опухоль и нейродегенеративные заболевания (болезнь Альцгеймера и Паркинсона). Однако куркумин не всегда хорошо усваивается организмом. Чтобы повысить его биодоступность, рекомендуется принимать его вместе с черным перцем и жиром. Результаты проведенных многочисленных доклинических исследований, включая исследования *in vitro* и на животных, демонстрируют, что куркумин способен влиять на уровень антиоксидантных маркеров. Употребление куркумина как биологически активную добавку к пище в объеме 1200 мг/день в течение трех месяцев показало положительный эффект [29, 30]. Куркумин демонстрирует способность снижать маркеры воспаления и оксидативного стресса у пациентов, страдающих от метаболического синдрома. В случае метаболического синдрома куркумин может воздействовать через различные механизмы, включая регуляцию генов, ответственных за синтез глюкозы и обмен липидов. Результаты метаанализа, включающего 7 клинических исследований с участием 503 пациентов с метаболическим синдромом, показали улучшение уровней глюкозы в крови натощак, триглицеридов, холестерина и диастолического артериального давления после приема куркумина [31, 32].

Рутин (витамин Р) – биофлавоноид, который естественным образом присутствует во многих плодах и овощах, особенно в цитрусовых, ягодах, зеленом чае и гречке. Рутин обладает антиоксидантными свойствами и может играть роль в качестве геропротектора (рис. 4f). Исследования показывают, что рутин положительно воздействует на здоровье и обладает сильными антиоксидантными свойствами, что помогает защитить клетки от повреждения свободными радикалами. Рутин имеет противовоспалительное действие и помогает снизить уровень воспаления в организме, которое играет важную роль в развитии многих возрастных заболеваний. Поэтому снижение воспаления может быть полезным для поддержания здоровья.

Рутин способствует укреплению стенок капилляров и сосудов, улучшению их эластичности и кровообращения. По результатам исследования можно сделать вывод о том, что рутин оказывает защитное действие на нервную систему и снижает риск развития некоторых неврологических заболеваний, таких как болезнь Альцгеймера и Паркинсона [33].

Альфа-липоевая кислота является мощным антиоксидантом, который имеет потенциальные свойства геропротектора. Она способна защищать клетки от оксидативного стресса (рис. 4g) [34]. Альфа-липоевая кислота обладает способностью нейтрализовывать свободные радикалы, которые могут повреждать клеточные структуры и ДНК. Также она способна регенерировать и усиливать действие других антиоксидантов, таких как витамины С и Е. Проявляет противовоспалительные свойства и способствует улучшению метаболических процессов в организме, способствует снижению уровня глюкозы в крови, улучшению чувствительности к инсулину и поддержанию здоровья сердечно-сосудистой системы. Исследования показали, что альфа-липоевая кислота обладает геропротекторным действием, помогая снижать риск возникновения возрастных заболеваний. Например, диабета, атеросклероза, нейродегенеративных заболеваний и др. Альфа-липоевая кислота, благодаря антирадикальной активности, способствует активации других антиоксидантов (витаминов группы А и С, глутатиона и коэнзима Q_{10}) в организме.

Если старые клетки не удаляются из организма по каким-либо причинам, то иммунная система начинает процесс их уничтожения. Однако если функционирование иммунной системы нарушено, то отработавшие клетки могут подвергнуться злокачественным изменениям и превратиться в клетки рака.

Сенолитики – это группа препаратов или веществ, направленных на устранение или снижение накопления сенесцентных клеток в организме (рис. 5). Сенесцентные клетки – это старые и поврежденные клетки, которые потеряли способность к нормальному делению, но продолжают оставаться активными и вырабатывать вредные молекулы, называемые сенесцентными маркерами. Накопление сенесцентных клеток связано с различными возрастными заболеваниями и процессом старения [35]. Сенолитики работают путем инактивации сенесцентных клеток, что может способствовать улучшению здоровья и замедлению процесса старения. Они могут иметь потенциал в лечении различных возрастных заболеваний, таких как сердечно-сосудистые заболевания, диабет, артрит, болезнь Альцгеймера и рак. Наиболее известными сенолитиками, которые были исследованы и показали потенциал в устранении сенесцентных клеток, являются дазатиниб и кверцетин [36, 37].

Дазатиниб – противоопухолевый препарат, который изначально был разработан для лечения хронического миелоидного лейкоза (рис. 5a). Однако более поздние исследования показали, что дазатиниб также обладает свойствами сенолитика. Он может селективно уничтожать сенесцентные клетки, что приводит к улучшению функции тканей и снижению воспаления. Дазатиниб был изучен на моделях мышей и показал результаты в снижении возрастных заболеваний и улучшении здоровья [36].

Биоактивное растительное вещество кверцетин широко распространено во многих фруктах, овощах и зеленом чае. Он известен своими антиоксидантными и противовоспалительными свойствами. Кверцетин также проявляет потенциал в качестве сенолитика (рис. 5b). Исследования на мышах показали, что кверцетин может селективно уничтожать сенесцентные клетки, улучшать функцию тканей и снижать воспаление. Кроме того, кверцетин может снижать риски

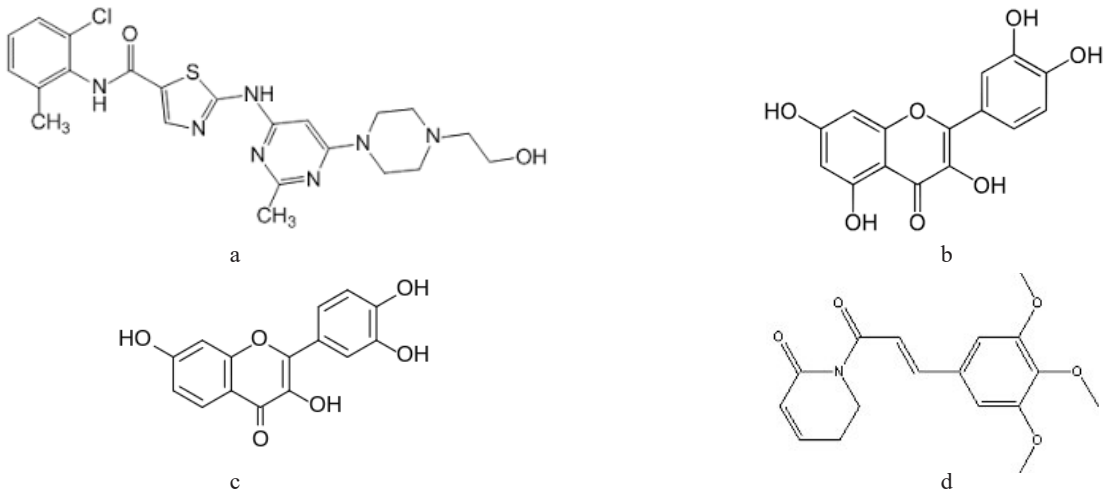


Рисунок 5. Структурные формулы БАВ геропротекторного действия группы сенолитиков: a – дазатиниб, b – кверцетин, c – физетин, d – пиперлонгумин

Figure 5. Biologically active anti-aging senolytic substances: a – dasatinib, b – quercetin, c – fisetin, d – piperlonguminine

сердечно-сосудистых заболеваний, т. к. он способен улучшать функцию сосудов, снижать уровень воспаления и окислительного стресса [38].

Хотя дазатиниб и кверцетин показали потенциал в качестве сенолитиков, дальнейшие исследования и клинические испытания необходимы для полного понимания их эффективности, безопасности и оптимальной дозировки в контексте устранения сенесцентных клеток и лечения возрастных заболеваний.

Препарат «БиоДигидрокверцетин», разработанный на основе березового гриба чага, относится к группе флавоноидов природного происхождения. Обладает противовоспалительными, антиоксидантными и гипогликемическими свойствами, иммуномодулирующим эффектом, противораковым и геропротекторным действиями, положительно влияет на сердечно-сосудистую систему, а именно способствует разжижению крови, улучшению работы миокарда и нормализации артериального давления, препятствует тромбообразованию [28, 36].

Другими примерами препаратов геропротекторного действия группы сенолитиков являются физетин (рис. 5c), пиперлонгумин (рис. 5d) и ашитаба [37].

Учитывая критерии, которым должны соответствовать геропротекторы, перспективным источником данных БАВ являются растения [9]. В работе Ю. А. Прасковой и ее коллег представлены данные о том, что *Vitis amurensis* Rupr., богатый полифенолами (кверцетином, кемпферолом и ресвератролом), может являться перспективным сырьем-геропротектором [8].

Адаптогены обладают геропротекторным действием, но эффект может варьироваться в зависимости от индивидуальных особенностей и состояния здоровья каждого человека [38]. Многие адаптогены обладают сильными антиоксидантными свойствами, что помогает защитить клетки организма от повреждений, вызванных свободными радикалами. Адаптогены, такие как родиола розовая (*Rhodiola rosea*) и лимонник китайский (*Schisandra chinensis*), могут помочь снизить уровень окислительного стресса и поддержать здоровье клеток, а также обладают иммуномодулирующим действием.

Терапевтическое действие козлятника лекарственного (*Galega officinalis*) известно во всем мире из-за содержания в нем соединения изоамилен-гуанидина (группа бигуаниды). По проведенным исследованиям *in vivo* установлено, что бигуаниды обладают не только гипогликемическим действием, но и геропротекторным, благодаря CR-транскрипционному ответу на объекты мишеней [39].

Адаптогены помогают организму адаптироваться к физическим и психологическим стрессовым факторам. Стресс может негативно влиять на организм человека и способствовать развитию различных возрастных заболеваний. Адаптогены, такие как элеутерококк колючий (*Eleutherococcus senticosus*) и ашваганда (ашваганда, *Withania somnifera*), могут помочь снизить уровень стресса, улучшить настроение и повысить способность организма справляться с неблагоприятными условиями. В иностранных источниках отмечено положительное влияние *W. somnifera* на ряд заболеваний невралгического характера (нарушение сна, чрезмерная тревожность и невроз навязчивых состояний), а также на эндокринное заболевание – диабет второго типа. Помимо перечисленных заболеваний, отмечается положительный эффект для профилактики когнитивных расстройств и злокачественных новообразований [40, 41].

Некоторые адаптогены, например, женьшень обыкновенный (*Panax ginseng*) и элеутерококк колючий (*E. senticosus*), могут помочь восстановить гормональный баланс в организме. Исследование химического состава разных частей растительного *E. senticosus* доказало, что распространение БАВ, способных регулировать иммунные реакции, по растению является неоднородным. В растительном экстракте на основе корневой части *E. senticosus* обнаружено большое количество сирингина, 3,4-диоксикоричной кислоты, кумаринового гликозида и агликона (изофраксидин) по сравнению с экстрактом на основе коры. Экстракт на основе коры содержал большое количество биоактивных веществ – сезамина и олеановой кислоты. По результатам анализа был сделан вывод о возможности трансдукции биологически активных веществ *E. senticosus* на противовоспалительный фенотип иммунной системы и сигнальные пути, участвующие в клеточном обмене веществ и регуляции актиновых филаментов [41]. С возрастом уровень некоторых гормонов может снижаться, что может приводить к различным проблемам со здоровьем. Адаптогены могут помочь стабилизировать уровень гормонов и поддержать нормальную функцию эндокринной системы, а также положительно влиять на иммунную систему.

Еще одной группой геропротекторов являются регуляторы сигнальных путей, которые влияют на различные биологические процессы, связанные со старением и возникновением возрастных заболеваний. Эти регуляторы могут модулировать активность генов, сигнальные каскады и метаболические пути, что может способствовать поддержанию здоровья и замедлению процессов старения.

Одним из примеров регуляторов сигнальных путей, которые могут действовать как геропротекторы, являются сиртуины – группа белков, регулирующие множество биологических процессов, связанных со старением и влияющих на генетическую экспрессию, энергетический обмен, воспаление и окислительный стресс. Активация сиртуинов, например, с помощью ресвератрола, может способствовать замедлению процессов старения и повышению продолжительности жизни [42, 43].

Регуляторы сигнальных путей влияют на различные аспекты старения и здоровья. Их активация или ингибирование может быть достигнута различными способами, включая неинвазивные интервенции, диету

Таблица 1. Биоактивные вещества для включения в состав биологически активных добавок геропротекторной направленности

Table 1. Bioactive substances to be used in dietary supplements with anti-aging properties

Заявка на изобретение	Суть	Ссылка
№ 2003135482/15	Применение гидрированных пиридо(4,3-b) индолов в качестве геропротектора	[47]
№ 2021123188	Применение композиции в качестве геропротекторного средства. Композиция содержит компоненты пирувата лития, цитрата лития, сукцината лития, оксалоацетата лития, малата лития и фумарата лития	[48]
№ 2006122062/15	Выделение биологически активного вещества из эпифиза животных и получение лечебного средства для парентерального введения, которое может быть использовано в медицине как средство, проявляющее геропротекторную активность	[49]
№ 2020115347	Применение альфа-кетоглутарата лития в качестве геропротекторного средства, обладающего способностью продлевать жизнь	[50]
№ 2015146305	Применение галактоолигосахаридной композиции для предотвращения или лечения когнитивной дисфункции и эмоциональных расстройств при психоневрологических заболеваниях или старении	[51]
№ 96107214/14	Применение олигосахарида, содержащего 2–5 озидных остатка, в котором имеется галактозный остаток на невосстанавливающемся конце, или его производного, содержащего гидрофобный остаток, для получения лекарственного средства, пригодного для профилактики или борьбы со старением соединительной ткани	[52]
№ 2021122392	Пептид для профилактики повреждений кожи, вызванных атмосферными загрязнениями, и для омолаживающей терапии	[53]
№ 2010106079/15	При применении композиций экстрактов достигается синергетический эффект в лечении и предотвращении признаков старения кожи	[54]

и физическую активность. Регуляторы метаболизма могут модулировать обмен веществ, использование энергии, уровень глюкозы и липидов, а также другие метаболические пути, что может способствовать поддержанию здоровья и замедлению процессов старения. Регулятором метаболизма геропротекторного действия является транс-коричная кислота (транс-пальмитолеиновая кислота). Транс-коричная кислота представляет собой мононенасыщенный жир, который естественным образом присутствует в молочных продуктах и мясе некоторых животных [33, 43]. Некоторые исследования связывают потребление транс-коричной кислоты с улучшением метаболического профиля и снижением риска развития метаболического синдрома. Транс-коричная кислота способствует повышению чувствительности к инсулину, снижению уровня воспаления и улучшению профиля липидов в крови, оказывает противовоспалительное действие и способствует здоровью сердца.

Биоактивное соединение природного происхождения трипептид обладает выраженным иммуномодулирующим и геропротекторным действием. При изучении состава пептидного препарата эпиталамина, выделенного из эпифизов мозга крупного рогатого скота, методом высокочувствительной хроматомасс-спектрометрии, был выявлен тетрапептид Ala-Glu-Asp-Gly (AEDG), получивший название «Эпиталон» [44, 45]. Эпиталон обладает уникальной биологической активностью [46]. Введение тетрапептида животным приводило к статистически значимому увеличению длительности жизни на 30 % по сравнению с контролем [32]. Действие препарата на испытуемых продемонстрировало положительный результат как на животных, так и при введении препарата человеку. Препарат «Эпиталон» активирует гетерохроматин в клеточных ядрах у людей старческого возраста и способствует увеличению экспрессии репрессированных генов [32].

Рассмотренные группы геропротекторных БАВ можно использовать в качестве компонентов для создания функциональных продуктов питания или биологически активных добавок, обладающих геропротекторным действием, предотвращающих и предупреждающих процесс преждевременного старения организма.

Биоактивные вещества, синтезированные в лабораторных условиях, для включения в состав биологически активных добавок геропротекторной направленности перечислены в таблице 1 (результаты патентного поиска в базе денных ФИПС).

В результате изучения существующих биоактивных веществ геропротекторной направленности рассмотрели перспективные компоненты-геропротекторы, на основе которых можно разрабатывать биологически

активные добавки и функциональные продукты питания. Несбалансированное питание, отсутствие физической активности, вредные привычки и слабый иммунитет являются факторами, которые способствуют развитию и прогрессированию заболеваний и преждевременного старения [32].

Выводы

На основании проведенного обзора научных публикаций установили, что существует несколько причин невнимательного отношения населения к своему здоровью: допущение несбалансированного и нездорового питания, ведение малоподвижного образа жизни и наличие вредных привычек. Это ведет к снижению иммунитета, появлению различных заболеваний, развитию патологий и преждевременному старению организма. Основными заболеваниями, на профилактику которых в большей степени нацелены отечественные геропротекторы, являются сердечно-сосудистые патологии. Потребители готовы употреблять БАВ-геропротекторы для профилактики заболеваний, поднятия иммунной защиты организма и продления жизни.

Перспективными биоактивными веществами-геропротекторами являются антиоксиданты, сенолитики, адаптогены, регуляторы сигнальных путей, бигуаниды и сиртуины. Природными источниками БАВ, использующимися для профилактики преждевременного старения, являются растения *Galega officinalis*, *Eleutherococcus senticosus*, *Withania somnifera* и т. д.

Отечественный рынок биологически активных добавок геропротекторного действия является развитым и предлагает широкий спектр препаратов и биоактивных веществ для увеличения продолжительности жизни. Стоит обратить внимание на создание новых геропротекторов, используя метаболиты растительных объектов, выращиваемых *in vitro*. Каллусная система является перспективным и современным методом микроклонального размножения растительных объектов в искусственно созданных условиях. Это позволяет круглогодично выращивать и использовать искусственно выведенные на питательных средах растения в качестве источников биологически активных веществ [55].

Критерии авторства

Все авторы внесли равный вклад в исследование и несут равную ответственность за информацию, опубликованную в данной статье.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Contribution

All authors have contributed equally to the study and are equally responsible for the information published in this article.

Conflict of interest

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

References/Список литературы

1. UN forecast: Global population will reach eight billion this autumn [Internet]. [cited 2024 Mar 11]. Available from: https://news.un.org/ru/story/2022/07/1427472

2. Sukhikh S, Babich O, Prosekov A, Patyukov N, Ivanova S. Future of chondroprotectors in the treatment of degenerative processes of connective tissue. Pharmaceuticals. 2020;13(9):220. https://doi.org/10.3390/ph13090220

3. Pavlova TV, Proshchayev KI, Satarinova EE, Pilkevich NB, Pavlova LA. The evaluation of changes in muscle strength in elderly patients with premature aging. Medical Herald of the South of Russia. 2019;10(1):59–64. (In Russ.). https://doi.org/10.21886/2219-8075-2019-10-1-59-64; https://elibrary.ru/IVZAJI

4. Ilnitski AN, Masnaya MV, Viktoriya DI, Galkina IYu, Sanches EA. Different morphotypes of skin aging in women and premature aging: Prevention and follow-up somatocognitive programs. Current Problems of Health Care and Medical Statistics. 2021;(2):61–72. (In Russ.). https://doi.org/10.24412/2312-2935-2021-2-61-72; https://elibrary.ru/KDGCKB

5. Malyutina ES, Fesenko EV, Sanches EA, Ismanova VD, Kuzminov OM. Influence of clinical and biological variants of premature aging on cognitive functionality. Research Results in Biomedicine. 2021;7(2):164–172. https://doi.org/10.18413/2658-6533-2021-7-2-0-7

6. Pristrom MS, Shtonda MV, Semenenkov II. A look at the problem of premature aging: Approaches to prevention. General Medicine: Journal of Scientific and Practical Therapy. 2021;(1):5–24. (In Russ.). [Пристром М. С., Штонда М. В., Семененков И. И. Взгляд на проблему преждевременного старения: подходы к профилактике // Лечебное дело: научно-практический терапевтический журнал. 2021. № 1. С. 5–24.]. https://elibrary.ru/MSIOAR

7. Federal project: Improving people's health [Internet]. [cited 2024 Mar 12]. Available from: https://minzdrav.gov.ru/poleznye-resursy/natsproektzdravoohranenie/zozh

8. Praskova JuA, Kiseleva TF, Reznichenko IYu, Frolova NA, Shkrabtak NV, Lawrence Yu. Biologically active substances of *Vitis amurensis* Rupr.: Preventing premature aging. Food Processing: Techniques and Technology. 2021;51(1):159–169. (In Russ.). https://doi.org/10.21603/2074-9414-2021-1-159-169; https://elibrary.ru/WOOIQP

9. Vesnina AD, Prosekov AYu, Dmitrieva AI, Asyakina LK, Velichkovich NS. Relevance of the use of plant extracts in the creation of functional products that have a geroprotective effect. International Journal of Pharmaceutical Research. 2020; 12(3):1865–1879. https://doi.org/10.31838/ijpr/2020.12.03.261

10. 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; https://elibrary.ru/GLOGHP

11. Olovnikov AM. A theory of marginotomy. The incomplete copying of template margin in enzymic synthesis of polynucleotides and biological significance of the phenomenon. Journal of Theoretical Biology. 1973;41(1):181–190. https://doi.org/10.1016/0022-5193(73)90198-7

12. Koltover VK. Antioxidant biomedicine: from free radical chemistry to systems biology mechanisms. Izvestiya Akademii Nauk. Seriya Khimicheskaya. 2010;(1):37–43. (In Russ.). [Кольтовер В. К. Антиоксидантная биомедицина: от химии свободных радикалов к системно-биологическим механизмам // Известия академии наук. Серия химическая. 2010;(1): 37–43.]. https://elibrary.ru/TKWFSF

13. Milentyeva IS, Vesnina AD, Fedorova AM, Ostapova EV, Larichev TA. Chlorogenic acid and biohanin 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

14. 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

15. Spivak IM, Slizhov PA, Pleskach NM, Nyrov VA, Panferov EV, Michelson VM. Overcoming accelerated and natural aging with geroprotectors. Health as the Basis of Human Potential: Problems and Solutions. 2018;13(1):133–143. (In Russ.). [Преодоление ускоренного и естественного старения с помощью геропротекторов / И. М. Спивак [и др.] // Здоровье – основа человеческого потенциала: проблемы и пути их решения. 2018. Т. 13. № 1. С. 133–143.]. https://elibrary.ru/YTUESL

16. 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

17. Moskalev A, Chernyagina E, Tsvetkov V, Fedintsev A, Shaposhnikov M, Krut`ko V, *et al.* Developing criteria for evaluation of geroprotectors as a key stage toward translation to the clinic. Aging Cell. 2016;15(3):407–415. https://doi.org/10.1111/acel.12463

18. Moskalev A, Chernyagina E, Kudryavtseva A, Shaposhnikov M. Geroprotectors: A unified concept and screening approaches. Aging and Disease. 2017;8(3):354–363. https://doi.org/10.14336/AD.2016.1022

19. Khavinson VK, Morozov VG. Geroprotective effect of thymalin and epithalamin. Advances in Gerontology. 2002; (10):74–84. https://elibrary.ru/MPKSIV

20. Moskalev AA, Krementsova AV, Malysheva OA. Melatonin influence on *Drosophila melanogaster* life span at different light regimes. Ecological Genetics. 2008;6(3):24–32. (In Russ.). [Москалев А. А., Кременцова А. В., Малышева О. А. Влияние мелатонина на продолжительность жизни *Drosophila melanogaster* при различных режимах освещения // Экологическая генетика. 2008. Т. 6. № 3. С. 24–32.]. https://elibrary.ru/JURGRZ

21. Zaharova IN, Obynochnaya EG, Skorobogatova EV, Malachina OA. Influence of cudesan – anti-oxidant based on ubiquinon – upon lipid peroxidation activity and oxidative protection in cases of pediatric pyelonephritis. Pediatriya. 2005; 84(4):75–78. (In Russ.). [Влияние антиоксиданта на основе убихинона на активность перекисного окисления липидов и антиоксидантную защиту при пиелонефрите у детей / И. Н. Захарова [и др.] // Педиатрия. 2005. Т. 84. № 4. С. 75–78.]. https://elibrary.ru/HSTEUV

22. Danyo EK, Ivantsova MN. Fruit phytochemicals: Antioxidant activity and health-promoting properties. Foods and Raw Materials. 2025;13(1):58–72. https://doi.org/10.21603/2308-4057-2025-1-623

23. Kravtsova LA, Shkolnikova MA. Use of coenzyme Q_{10} in cardiological care: biological and clinical aspects. Russian Bulletin of Perinatology and Pediatrics. 2008;53(1):51–57. (In Russ.). [Кравцова Л. А., Школьникова М. А. Биологические и клинические аспекты применения коэнзима Q_{10} в кардиологической практике // Российский вестник перинатологии и педиатрии. 2008. Т. 53. № 1. С. 51–57.]. https://elibrary.ru/JUETQB

24. Joshi SS, Sawant SV, Shedge A, Joshi SS, Sawant SV, Shedge A. Comparative bioavailability of two novel coenzyme Q10 preparations in humans. International Journal of Clinical Pharmacology and Therapeutics. 2003;41:42–48. https://doi.org/10.5414/CPP41042

25. Orlova SV, Nikitina EA, Prokopenko EV, Balashova NV, Vodolazkaya AN. An ode to curcumin: One hundred mechanisms of curcumin's effectiveness against human pathological conditions. Medical Alphabet. 2022;(16):127–134. (In Russ.). [Ода куркумину: сто механизмов эффективности куркумина против патологических состояний человека / С. В. Орлова [и др.] // Медицинский алфавит. 2022. № 16. С. 127–134.]. https://elibrary.ru/IVPWTV

26. Srinivasan A, Selvarajan S, Kamalanathan S, Kadhiravan T, Lakshmi NCP, Adithan S. Effect of *Curcuma longa* on vascular function in native Tamilians with type 2 diabetes mellitus: A randomized, double-blind, parallel arm, placebo-controlled trial. Phytotherapy Research. 2019;33(7):1898–1911. https://doi.org/10.1002/ptr.6381

27. Dadali YuV, Dadali VA, Makarov VG. Rapid catalytic method for preparing recovered form of coenzyme Q10 to be used in pharmaceutical and food compositions. Russia patent RU 2535928C1. 2014. [Экспрессный способ получения восстановленной формы коэнзима Q10 на основе катализаторов для использования в фармацевтических и пищевых композициях: пат. 2535928C1 Рос. Федерация. № 2013125386/04 / Дадали Ю. В., Дадали В. А., Макаров В. Г.; заявл. 31.05.2013; опубл. 20.12.2014. 9 с. Бюл. № 35.].

28. Hallajzadeh J, Milajerdi A, Kolahdooz F, Amirani E, Mirzaei H, Asemi Z. The effects of curcumin supplementation on endothelial function: A systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. Phytotherapy Research. 2019;33(11):2989–2995. https://doi.org/10.1002/ptr.6477

29. Azhdari M, Karandish M, Mansoori A. Metabolic benefits of curcumin supplementation in patients with metabolic syndrome: A systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. Phytotherapy Research. 2019;33(5):1289–1301. https://doi.org/10.1002/ptr.6323

30. Osali A. Aerobic exercise and nano-curcumin supplementation improve inflammation in elderly females with metabolic syndrome. Diabetology and Metabolic Syndrome. 2020;12:26. https://doi.org/10.1186/s13098-020-00532-4

31. Soloveva NL, Sokurenkova MS, Zypyanov OA. Bioavailabilit y of curcumin and methods of its enhancing. Drug Development and Registration. 2018;(3):46–53. (In Russ.). [Соловьёва Н. Л., Сокуренко М. С., Зырянов О. А. Биодоступность куркумина и методы ее повышения (обзор) // Разработка и регистрация лекарственных средств. 2018. № 3. С. 46–53.]. https://elibrary.ru/XYDXNB

32. Khavinson VKh, Kuznik BI, Ryzhak GA. Peptide geroprotectors as epigenetic regulators of physiology. St. Petersburg: Herzen State Pedagogical University of Russia; 2014. 271 p. (In Russ.). [Хавинсон В. Х., Кузник Б. И., Рыжак Г. А. Пептидные геропротекторы – эпигенетические регуляторы физиологических функций организма. СПб.: РГПУ им. А. И. Герцена, 2014. 271 с.]. https://elibrary.ru/YSSNLD

33. Bidzhieva AEh, Chiriapkin AS. Review of the biological activity of rutin: Antidiabetic, antioxidant, anti-inflammatory and antitumor. Bulletin of Science and Practice. 2023;9(8):48–57. (In Russ.). https://doi.org/10.33619/2414-2948/93/05; https://elibrary.ru/WKGTCO

34. Kalinchenko SYu, Vorslov LO, Kurnikova IA, Gadzinva IV. A modern view on alpha-lipoic acid in practice. Effective Pharmacotherapy. 2012;(39):54–59. (In Russ.). [Современный взгляд на возможности применения альфа-липоевой кислоты / С. Ю. Калинченко [и др.] // Эффективная фармакотерапия. 2012. № 39. С. 54–59.]. https://elibrary.ru/SKFWVX

35. Tebeneva PA, Bankov VI, Maklakova IYu. Senolytics and senostatics as potential geroprotectors. Original Studies. 2023;13(4):41–48. (In Russ.). [Тебенева П. А., Баньков В. И., Маклакова И. Ю. Сенолитики и сеностатики, как потенциальные геропротекторы // Оригинальные исследования. 2023. Т. 13. № 4. С. 41–48.]. https://elibrary.ru/LBLXCH

36. Abdulkadyrov KM, Shuvaev VA, Martynkevich IS. Dasatinib: Ten years of clinical practice worldwide. Oncohematology. 2016;11(1):24–33. https://doi.org/10.17650/1818-8346-2016-11-1-24-33; https://elibrary.ru/WALWBN

37. Ilyushchenko AK, Matchekhina LV, Tkacheva ON, Balashova AV, Melnitskaia AA, Churov AV, *et al.* Senolytic drugs: Implications for clinical practice. Problems of Geroscience. 2023;(1):7–14. (In Russ.). https://doi.org/10.37586/2949-4745-1-2023-7-14; https://elibrary.ru/EMMLUP

38. Davinelli S, de Stefani D, de Vivo I, Scapagnini G. Polyphenols as caloric restriction mimetics regulating mitochondrial biogenesis and mitophagy. Trends in Endocrinology and Metabolism. 2020;31(7):536–550. https://doi.org/10.1016/j.tem.2020.02.011

39. Kim DH, Bang EJ, Jung HJ, Noh SG, Yu BP, Choi YJ, *et al.* Anti-aging effects of calorie restriction (CR) and CR mimetics based on the senoinflammation concept. Nutrients. 2020;12(2):422. https://doi.org/10.3390/nu12020422

40. Mandlik Ingawale DS, Namdeo AG. Pharmacological evaluation of Ashwagandha highlighting its healthcare claims, safety, and toxicity aspects. Journal of Dietary Supplements. 2020;18(2):183–226. https://doi.org/10.1080/19390211.2020.1741484

41. Tandon N, Yadav SS. Safety and clinical effectiveness of *Withania somnifera* (Linn.) Dunal root in human ailments. Journal of Ethnopharmacology. 2020;255:112768. https://doi.org/10.1016/j.jep.2020.112768

42. Pukhalskaia AE, Diatlova AS, Linkova NS, Kvetnoy IM. Sirtuins: The role in oxidative stress regulation and pathogenesis of neurodegenerative diseases. Progress in Physiological Science. 2021;52(1):90–104. (In Russ.). https://doi.org/10.31857/S0301179821010082

43. Savitskiy DV, Linkova NS, Kozhevnikova EO, Kozlov KL, Paltseva EM, Kvetnaia TV. Sirtuins and chemokines as markers of replicative and induced senescence of human endotheliocytes. Acta Biomedica Scientifica. 2022;7(5–2):12–20. (In Russ.). https://doi.org/10.29413/ABS.2022-7.5-2.2

44. Khavinson VK, Kopylov AT, Vaskovsky BV, Ryzhak GA, Lin'kova NS. Identification of peptide AEDG in the polypeptide complex of the pineal gland. Bulletin of Experimental Biology and Medicine. 2017;164(7):52–55. (In Russ.). [Идентификация пептида AEDG в полипептидном комплексе эпифиза / В. Х. Хавинсон [и др.] // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. 2017. Т. 164. № 7. С. 52–55.]. https://elibrary.ru/ZCPSNB

45. Khavinson VKh. Tetrapeptide showing geroprotective activity, pharmacological agent based on thereof and method of its use. Russia patent RU 2157233C1. 2000. [Тетрапептид, обладающий геропротекторной активностью, фармакологическое средство на его основе и способ его применения: пат. 2157233C1 Рос. Федерация. № 99108841/14 / Хавинсон В. Х.; заявл. 11.05.1999; опубл. 10.10.2000. 26 с.].

46. Khavinson VKh, Popovich IG. Pineal peptides and their role in ageing. Pathogenesis. 2017;15(3):12–19. (In Russ.). https://doi.org/10.25557/GM.2017.3.8493; https://elibrary.ru/ZWOHQZ

47. Bachurin SO, Grigor′ev VV. Geroprotector based on hydrogenated pyrido(4,3-b) indoles (variants), pharmacological agents, and application methods. Russia patent RU 2003135482A. 2005. [Геропротектор на основе гидрированных пиридо(4,3-b) индолов (варианты), фармакологическое средство на его основе и способ его применения: пат. 2003135482A Рос. Федерация. № 2003135482/15 / Бачурин С. О., Григорьев В. В.; заявл. 08.12.2003; опубл. 20.05.2005. 2 с. Бюл. № 14.].

48. Plotnikov EV. Composition with a geroprotector effect. Russia patent RU 2770515C1. 2022. [Композиция, обладающая геропротекторным действием: пат. 2770515C1 Рос. Федерация. № 2021123188 / Плотников Е. В.; заявл. 03.08.2021; опубл. 18.04.2022. 6 с. Бюл. № 11.].

49. Khavinson VK, Malinin VV, Ryzhak GA. Geroprotector activity exhibiting agent and a method for preparation thereof. Russia patent RU 2302870C1. 2007. [Средство, обладающее геропротекторной активностью, и способ его получения: пат. 2302870C1 Рос. Федерация. № 2006122062/15 / Хавинсон В. Х., Малинин В. В., Рыжак Г. А.; заявл. 22.06.2006; опубл. 20.07.2007. 15 с. Бюл. № 20.].

50. Plotnikov EV. Geroprotector agent. Russia patent RU 2730133C1. 2020. [Геропротекторное средство: пат. 2730133C1 Рос. Федерация. № 2020115347 / Плотников Е. В.; заявл. 04.05.2020; опубл. 18.08.2020. 5 с. Бюл. № 23.].

51. Galactooligosaccharide composition and its application in prevention or treatment of cognitive dysfunction and emotional disorders in neuropsychiatric diseases or aging. Russia patent RU 2015146305A. 2017. [Галактоолигосахаридная композиция и ее применение для предотвращения или лечения когнитивной дисфункции и эмоциональных расстройств при психоневрологических заболеваниях или старении: пат. 2015146305A Рос. Федерация. № 2015146305; заявл. 28.03.2013; опубл. 04.05.2017. 2 с. Бюл. № 13.].

52. Ladislas R, Rober A, Mokzar E. Oligosaccharides in preventing or combating tissue aging. Russia patent RU 96107214A. 1998. [Применение олигосахаридов для предупреждения или для борьбы со старением тканей: пат. 96107214A Рос. Федерация. № 96107214/14 / Робер Л., Робер А., Мокзар Э.; заявл. 17.03.1996; опубл. 10.06.1998.].

53. Chung YJ, Kim EM, Lee EJ. Peptide for the prevention of skin damage caused by atmospheric pollution and for anti-aging therapy, as well as its use. Russia patent RU 2773534C1. 2022. [Пептид для профилактики повреждений кожи, вызванных атмосферными загрязнениями, и для омолаживающей терапии, а также его использование: пат. 2773534C1 Рос. Федерация. № 2021122392 / Чон Ё. Ч., Ким Ы. М., Ли Ы. Ч.; заявл. 23.04.2019; опубл. 06.06.2022. 37 с. Бюл. № 16.].

54. Kizoulis MG, Sautkholl M, Taker-Samaras SD. Compositions and methods for treatment of symptoms of aging. Russia patent RU 2532373C2. 2014. [Композиции и способы для лечения симптомов старения кожи: пат. 2532373C2 Рос. Федерация. № 2010106079/15 / Кизоулис М. Г., Саутхолл М., Такер-Самарас С. Д.; заявл. 19.02.2010; опубл. 10.11.2014. 16 с. Бюл. № 24.].

55. Fedorova AM, Loseva AI, Dyshlyuk LS, Minina VI. Optimization of extraction of active substances of callus and root cultures of *Panax ginseng*. Polzunovskiy Vestnik. 2021;(4):60–69. (In Russ.). https://doi.org/10.25712/ASTU.2072-8921.2021.04.009; https://elibrary.ru/PKDXDU

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 – редколлегией 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 MicrosoftOffice 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.

FOR AUTHORS

Food Processing: Techniques and Technology reports pioneering research in the food industry and all branches of agricultural science. We publish scientific papers, reviews, and brief scientific reports in such spheres of food science as food systems, biotechnology, food production technology, sanitation and hygiene, ecology, biosafety, zootechnics, agro-industrial machinery, etc.

Before submitting your manuscript, please make sure you have not submitted it elsewhere. Your research topic should correspond to the profile of the Journal and be relevant for the scientific community.

First, we check if your manuscript complies with the Journal's profile and formatting. Then, we check it for unattributed borrowings from open sources (plagiarism) at *www.antiplagiat.ru* and *www.ithenticate.com*.

After that, your manuscript undergoes a double-blind peer review by specialists appointed by the Chief Editor or the Deputy Editor. The peer review can be conducted by the members of the Editorial Board or by acknowledged academic experts in the area of research who have recent publications on the related topic.

The Reviewers are notified about the manuscripts being the authors' private owner rights that cannot be subject to public disclosure. The Reviewers are not allowed to copy them. Reviewing is strictly confidential. Violation of confidentiality is impossible unless the Reviewer reports unreliability or counterfeiting.

Usually, reviewing does not exceed three months from the day the Reviewer receives the manuscript.

All reviews are disposed of five years after the publication.

Based on the results, the Reviewer produces a reasoned opinion:

– the manuscript can be recommended for publication;
– the manuscript can be recommended for publication after some improvement;
– the manuscript cannot be recommended for publication (reasons for rejection).

If the article underwent a considerable follow-on revision, it is again sent to the same Reviewer who gave the critical remarks.

We reserve the right to reject the manuscript if the Author is unable or unwilling to follow the recommendations.

In case of two negative initial reviews or one negative review on the revised variant, the manuscript is rejected without considering by other members of the Editorial Board.

The Author of the rejected article receives the reviews and a motivated refusal. The Reviewer's name may be reported to the Author provided that the former gives consent to it.

After reviewing, the Chief Editor and the Editorial Board make the final decision.

We are obliged to provide review copies to the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation upon request, but we do not retain rejected articles.Accepted manuscripts are not returned. The manuscripts with negative reviews are not published and not returned to the Author, either.

Manuscripts are usually published in the order we receive them. In exceptional cases, the Editorial Board maintains the right to change the order of publication.

All papers published in the Food Processing: Techniques and Technology fall under the terms of the Creative Commons Attribution 4.0 International (CC BY 4.0).

FORMATTING

The article body should be 35.000–40.000 characters with spaces (abstract, figures, and tables included). Reviews have an unlimited wordage.

Format instructions:

– 20 mm margins;
– single line spacing without automatic hyphenation;
– no extra interspaces between words or gaps between paragraphs;
– Times New Roman, size 10;
– editable and colored Microsoft Office or Corel Draw figures and diagrams attached separately as tiff, jpeg, cdr, or excel files.

Please, do not overload your text with unnecessary formulae; do not illustrate the same results with both a table and a graph. Give each table or figure a header and a number, which you will use in the text to introduce them.

Structure:

1. Type of manuscript (research paper/review/report)
2. Title
3. Initials and last names of the authors
4. Affiliations
5. Email of the author responsible for correspondence
6. bstract (Introduction; Study Objects and Methods; Results and Discussion; Conclusions)
7. Keywords
8. Funding
9. Article body (Introduction; Study objects and methods; Results and discussion; Conclusions)
10. Contribution
11. Conflict of Interests
12. Acknowledgements
13. References
14. About the authors

You can submit your manuscript and all accompanying documents on our site *https://fptt.ru* or email them to *fptt98@gmail.com*

Documents:

We expect to receive the following documents as separate files:

1. an MSWord e-version of your article named by the first author's last name (e.g., Smith.doc);
2. a scanned PDF version of your article, the first page signed by all the authors (Smith.pdf);
3. a scanned PDF version of a cover letter to the Chief Editor from your organization with the conclusion about the relevance of the research and recommendations for its publishing. It should contain the date, reference number, and the signature of the head of the organization;
4. a standard copyright agreement.

For more information, please, visit us at *https://fptt.ru*

ISSN 2074-9414 (Print)
ISSN 2313-1748 (Online)
https://doi.org/10.21603/2074-9414-2024-2
https://fptt.ru/

СОДЕРЖАНИЕ

Колпакова Д. Е., Сераzетдинова Ю. Р., Фотина Н. В., Заушинцена А. В., Асякина Л. К., Лосева А. И. Микробная биофортификация злаковых культур: перспективы и текущее развитие 191

Долганюк В. Ф., Сухих С. А., Каширских Е. В., Ульрих Е. В., Кремлева О. Е., Бабич О. О. Скрининг и характеристика антиоксидантных свойств психрофильных микроводорослей и цианобактерий Балтийского моря 212

Минаков Д. В., Конева С. И., Егорова Е. Ю. Ферменты биомассы мицелия грибов *Cordyceps militaris* и *Lentinula edodes* в технологии хлеба 222

Агустиана, Айсия С., Рахмавати Х., Анггрэйни Д. Э., Рамадхани А. Жевательный мармелад с желатином из кожи скумбрии (*Scomberomorus commersonii*) 237

Свердлова О. П., Подшивалова Е. В., Шарова Н. Ю., Белова Д. Д. Исследование нативной микробиоты рапсового жмыха – потенциального источника промышленных продуцентов 245

Мотовилова Н. В., Голуб О. В., Чекрыга Г. П. Развитие микобиоты ягод крыжовника при хранении 261

Алкадур М. И., Пряничникова Н. С., Юрова Е. А., Петров А. Н. Влияние термизации и пастеризации на качество сухого молока 275

Сибирцев В. С., Кузьмин А. Г., Титов Ю. А., Зайцева А. Ю., Шерстнёв В. В. Газовый масс-спектрометрический анализ промышленных йогуртов 285

Окечукву К. Н. Влияние фитохимического и антиоксидантного составов необработанных водных экстрактов *Chlorella vulgaris* на рост *Saccharomyces cerevisiae* в спиртовой среде 299

Тареев А. И., Березнов А. В., Смирнов В. В., Тареева А. А., Кислая С. С. Мировой рынок химических средств защиты растений: потенциальные потери урожая, тренды и перспективы производства пестицидов для экономики России 310

Грузнов Д. В., Грузнова О. А., Сохликов А. Б., Лобанов А. В. Изменение химического состава и антимикробной активности меда, хранящегося при низких температурах 330

Бурак Л. Ч., Завалей А. П. Эффективность комбинированного воздействия ультразвука и микроволн при обработке пищевых продуктов. Обзор 342

Ожерельева З. Е., Никитин А. Л., Прудников П. С., Ветрова О. А. Действие органоминерального комплекса «Белый Жемчуг» на качества и выход товарных плодов яблони после длительного хранения 358

Воронов Е. В. Разработка СВЧ-установки для термообработки отходов убоя животных 369

Кокшаров А. А., Маюрникова Л. А., Пластун А. Д., Давыденко Н. И., Крапива Т. В. Гистологические исследования мясной продукции по Sous vide на основе обзора известных подходов к формированию качества 382

Иванова Л. А., Тимощук И. В., Горелкина А. К., Михайлова Е. С. , Голубева Н. С., Неверов Е. Н., Утробина Т. А. Выбор сорбента для элиминации ионов железа из сточных и природных вод 398

Лебедева С. Н., Болхонов Б. А., Жамсаранова С. Д., Баженова Б. А. , Лескова С. Ю. Изучение некоторых функциональных характеристик ферментативных гидролизатов пищевых белков 412

Фокина А. Д., Веснина А. Д., Фролова А. С., Чекушкина Д. Ю., Проскурякова Л. А., Аксенова Л. М. Биоактивные вещества геропротекторной направленности 423

CONTENTS

Kolpakova Daria E., Serazetdinova Yuliya R., Fotina Natalya V., Zaushintsena Alexandra V., Asyakina Lyudmila K., Loseva Anna I. Microbial Biofortification of Grain Crops: Current State and Prospects 192

Dolganyuk Vyacheslav F., Sukhikh Stanislav A., Kashirskih Egor V., Ulrikh Elena V., Kremleva Olga E., Babich Olga O. Screening and Profiling the Antioxidant Properties of Psychrophilic Microalgae and Cyanobacteria from the Baltic Sea 213

Minakov Denis V., Koneva Svetlana I., Egorova Elena Yu. Mycelial Biomass Enzymes of *Cordyceps militaris* and *Lentinula edodes* in Baking Technology 223

Agustiana, Aisyah Siti, Rahmawati Hafni, Anggraini D.E., Ramadhani Aolia Gelatin Jelly Candy from Mackerel Skin (*Scomberomorus commersonii*) 236

Sverdlova Olga P., Podshivalova Elizaveta V., Sharova Natalya Yu., Belova Daria D. Native Microbiota of Rapeseed Cake as Potential Source of Industrial Producers 246

Motovilova Natalya V., Golub Olga V., Chekryga Galina P. Gooseberry Microbiota during Storage 262

Alkadour Mohammed I., Pryanichnikova Nataliya S., Yurova Elena A., Petrov Andrey N. Effect of Thermal Treatment and Pasteurization on Milk Powder Quality 276

Sibirtsev Vladimir S., Kuzmin Alexey G., Titov Yuri A., Zaitseva Anna Yu., Sherstnev Vladislav V. Gas Mass Spectrometry of Industrial Yogurts 286

Okechukwu Queency N. Phytochemical and antioxidant composition of crude water extracts of *Chlorella vulgaris* and its effects on *Saccharomyces cerevisiae* growth in an ethanolic medium 298

Tareev Alexander I., Bereznov Alexey V., Smirnov Valery V., Tareeva Anna A., Kislaya Sofya S. Global Market of Chemical Crop Protection Agents: Forecasting Yield Losses and Economic Prospects for Domestic Pesticide Production 311

Gruznov Dmitry V., Gruznova Olga A., Sokhlikov Alexey B., Lobanov Anton V. Effect of Low-Temperature Storage on Chemical Composition and Antimicrobial Activity of Honey 331

Burak Leonid Ch., Zavaley Andrey P. Combined Ultrasound and Microwave Food Processing: Efficiency Review 343

Ozherelieva Zoya E., Nikitin Andrej L., Prudnikov Pavel S., Vetrova Oksana A. Beliy Zhemchug Activated Complex: Effect on Quality and Yield of Commercial Apples after Long-Term Storage 359

Voronov Evgeny V. Electrophysical Microwave Installation for Heat Treatment of Animal Slaughter Waste 370

Koksharov Arkadiy A., Mayurnikova Larisa A., Plastun Anna D., Davydenko Nataliia I., Krapiva Tatyana V. Histological Studies of *Sous Vide* Beef Based on Best Practices in Meat Quality Formation 383

Ivanova Ludmila A., Timoshchuk Irina V., Gorelkina Alena K., Mikhaylova Ekaterina S., Golubeva Nadezhda S., Neverov Evgeny N., Utrobina Tamara A. Removing Excess Iron from Sewage and Natural Waters: Selecting Optimal Sorbent 399

Lebedeva Svetlana N., Bolkhonov Bulat A., Zhamsaranova Sesegma D., Bazhenova Bayana A., Leskova Svetlana Yu. Study of Some Functional Characteristics of Enzymatic Hydrolysates of Food Proteins 413

Fokina Anna D., Vesnina Anna D., Frolova Anna S., Chekushkina Darya Yu., Proskuryakova Larisa A., Aksenova Larisa M. Bioactive Anti-Aging Substances: Geroprotectors..... 424